



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TEMA**

Elaboración de pruebas microbiológicas y luminométricas para validar la aplicación de los procedimientos operacionales estandarizados de saenamiento (POES) – condiciones y superficies de contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses.

**AUTORA**

**RODRÍGUEZ JACHO STEFANIE FERNANDA**

Trabajo de Titulación Previo a la obtención del título de  
**INGENIERA AGROINDUSTRIAL**  
con concentración en Agronegocios

**TUTOR**

**Ing. CHERO ALVARADO VICTOR EGBERT M.Sc.**

**Guayaquil, Ecuador**

**2016**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

### **CERTIFICACIÓN**

Certificamos que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por **STEFANIE FERNANDA RODRÍGUEZ JACHO**, como requerimiento parcial para la obtención del Título de **INGENIERA AGROINDUSTRIAL CON CONCENTRACIÓN EN AGRONEGOCIOS**.

### **TUTOR**

---

**Ing. VICTOR EGBERT CHERO ALVARADO M.Sc.**

### **DIRECTOR DE LA CARRERA**

---

**Ing. JOHN ELOY FRANCO RODRÍGUEZ M.Sc.**

**Guayaquil, a los 16 días del mes de marzo del año 2016**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD**

Yo, **Stefanie Fernanda Rodríguez Jacho**

**DECLARO QUE:**

El Trabajo de Titulación **Elaboración de pruebas microbiológicas y luminométricas para validar la aplicación de los procedimientos operacionales estandarizados de saenamiento (POES) - condiciones y superficies de contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses**, previa a la obtención del Título **de Ingeniera Agroindustrial con concentración en Agronegocios**, ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan al pie de las páginas correspondientes, cuyas fuentes se incorporan en la bibliografía. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance científico del Trabajo de Titulación referido.

**Guayaquil, a los 16 días del mes de marzo del año 2016**

**LA AUTORA**

---

**Stefanie Fernanda Rodríguez Jacho**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**AUTORIZACIÓN**

Yo, **Stefanie Fernanda Rodríguez Jacho**

Autorizo a la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, la **publicación** en la biblioteca de la institución del Trabajo de Titulación: **Elaboración de pruebas microbiológicas y luminométricas para validar la aplicación de los procedimientos operacionales estandarizados de saenamiento (POES) - condiciones y superficies de contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses**, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi exclusiva responsabilidad y total autoría.

**Guayaquil, a los 16 días del mes de marzo del año 2016**

**LA AUTORA**

---

**Stefanie Fernanda Rodríguez Jacho**

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios, a mis padres Fernando Rodríguez y Mélida Jacho por ser mis ejemplos a seguir, por su amor infinito, por haberme guiado siempre y apoyado hasta la culminación de mis metas.

A mis hermanos y mi esposo que siempre estuvieron apoyándome en todo momento y que con sus palabras alentadoras estuvieron presentes.

A todas las personas que han contribuido para el desarrollo de este trabajo de titulación, en especial a mi Tutor de Tesis Ing. Victor Chero junto con Hugo Rodríguez por su colaboración y apoyo incondicional porque sin ellos nada de esto sería posible.

**STEFANIE FERNANDA RODRÍGUEZ JACHO**

## **DEDICATORIA**

A Dios por guiarme y llenar mi camino con personas que han sabido contribuir en mi desarrollo personal y profesional.

A mi familia, esposo y amigos por brindarme siempre su apoyo.

En especial a mi Juan Diego, todo esfuerzo siempre lo haré por ti.

**STEFANIE FERNANDA RODRÍGUEZ JACHO**



**UNIVERSIDAD CATÓLICA  
DE SANTIAGO DE GUAYAQUIL  
FACULTAD DE EDUCACIÓN TÉCNICA PARA EL DESARROLLO  
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**CALIFICACIÓN**

---

**Ing. VICTOR EGBERT CHERO ALVARADO M.Sc.**

## ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página.
<b>1 INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Objetivos.....	2
1.1.1 General .....	2
1.1.2 Específicos.....	3
1.2 Hipótesis.....	3
<b>2 MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>4</b>
2.1 Procesamiento industrial de la carne .....	4
2.1.1 Recepción y enfriamiento de medias canales .....	4
2.1.2 Pesado .....	5
2.1.3 Desinfección de medias canales .....	5
2.1.4 Desposte .....	5
2.1.5 Inyección de salmuera .....	6
2.1.6 Empacado al vacío.....	6
2.1.7 Almacenamiento y despacho de producto .....	7
2.2 Tipos de contaminación: contaminación directa y contaminación cruzada.....	7
2.3 Microorganismos indicadores en la industria de alimentos.....	8
2.3.1 <i>Escherichia coli</i> .....	8
2.3.2 <i>Aeróbios mesófilos</i> .....	8
2.3.3 <i>Coliformes totales</i> .....	9
2.4 Control microbiológico de superficies .....	9



2.4.1	Técnica de hisopado .....	10
2.4.2	Método de Bioluminiscencia.....	11
2.4.3	Método Petrifilm™ .....	12
2.5	Plan de limpieza, desinfección, higiene y sanitización.....	17
2.5.1	Desinfección.....	17
2.5.2	Requisitos que debe cumplir un buen desinfectante .....	18
2.5.3	Limpieza.....	19
2.5.4	Higiene .....	19
2.5.5	Sanitización .....	19
2.6	Procedimientos y métodos de limpieza.....	20
2.7	Programas de limpieza .....	20
2.8	Normativas para el control de calidad e inocuidad .....	20
2.8.1	Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP).....	20
2.8.2	Buenas Prácticas de Manufactura.....	22
2.8.3	Norma peruana guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.....	23
2.8.4	Procedimientos operacionales estandarizados de sanitización (POES) .....	25
<b>3</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>29</b>
3.1	Ubicación del ensayo.....	29
3.2	Tiempo del ensayo .....	29
3.3	Materiales .....	30
3.4	Diseño experimental .....	42
3.4.1	Análisis de la varianza.....	42

3.4.2	Análisis funcional.....	42
3.5	Manejo del ensayo.....	43
3.5.1	Pruebas microbiológicas .....	43
3.5.2	Planes de muestreo .....	44
3.5.3	Tratamientos estudiados.....	44
3.5.4	Pruebas microbiológicas .....	46
3.5.5	Pruebas por bioluminiscencia .....	49
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>51</b>
4.1	Luminometría.....	51
4.1.1	Luminometría previa a la limpieza.....	51
4.1.2	Luminometría post operacional .....	52
4.2	Microbiológico (Petrifilm™) .....	54
4.2.1	<i>Escherichia coli</i> .....	54
4.2.2	<i>Coliformes totales</i> .....	61
4.2.3	<i>Aeróbios mesófilos</i> .....	67
<b>5</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....</b>	<b>74</b>
5.1	Conclusiones .....	74
5.2	Recomendaciones.....	75
	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>76</b>

## **ANEXOS**

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Métodos de muestreo según Norma Resolución Peruana Ministerial.....	24
<b>Tabla 2.</b> Requisitos microbiológicos para superficie inerte.....	25
<b>Tabla 3.</b> Ubicación geográfica del lugar del trabajo experimental .....	29
<b>Tabla 4.</b> Cronograma de actividades realizadas durante el trabajo experimental.....	30
<b>Tabla 5.</b> Análisis de la varianza .....	42
<b>Tabla 6.</b> Combinaciones de muestreo realizadas durante el desarrollo del trabajo experimental.....	45
<b>Tabla 7.</b> Resultados obtenidos de las superficies analizadas por luminometría antes de la limpieza operacional .....	51
<b>Tabla 8.</b> Resultados obtenidos de las superficies analizadas por luminometría después de la limpieza.....	53
<b>Tabla 9.</b> Resultados de <i>Escherichia coli</i> obtenidos en la limpieza pre- operacional .....	55
<b>Tabla 10.</b> Resultados de <i>Escherichia coli</i> obtenidos en la limpieza post- operacional .....	57
<b>Tabla 11.</b> Análisis de varianza.....	58
<b>Tabla 12.</b> Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III).....	59
<b>Tabla 13.</b> Resultado y medias por tratamiento- <i>Escherichia coli</i> .....	60
<b>Tabla 14.</b> Resultado de las medias por cada factor – <i>Escherichia coli</i> .....	61
<b>Tabla 15.</b> Resultados de <i>Coliformes totales</i> obtenidos en la limpieza pre- operacional.....	61

<b>Tabla 16.</b> Resultados de <i>Coliformes totales</i> obtenidos en la limpieza post- operacional.....	63
<b>Tabla 17.</b> Análisis de varianza.....	64
<b>Tabla 18.</b> Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III).....	65
<b>Tabla 19.</b> Resultado y medias por tratamiento- <i>Coliformes totales</i> .....	66
<b>Tabla 20.</b> Resultado de las medias por cada factor - <i>Coliformes totales</i> .....	67
<b>Tabla 21.</b> Resultados obtenidos de <i>aerobios mesófilos</i> obtenidos en la limpieza pre- operacional.....	67
<b>Tabla 22.</b> Resultados de <i>aerobios mesófilos</i> obtenidos en la limpieza post- operacional .....	69
<b>Tabla 23.</b> Análisis de varianza.....	70
<b>Tabla 24.</b> Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III).....	71
<b>Tabla 25.</b> Resultado y medias por tratamiento- <i>Aerobios mesófilos</i> .....	72
<b>Tabla 26.</b> Resultado de las medias por cada factor – <i>Aerobios mesófilos</i> .....	73

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Hisopos CLEAN-TRACE 3M.....	10
<b>Gráfico 2.</b> Método de frotis del hisopo.....	11
<b>Gráfico 3.</b> Placas Petrifilm™ para recuento de <i>Aerobios mesófilos</i> y <i>bacterias ácidas lácticas</i> .....	14
<b>Gráfico 4.</b> Placas Petrifilm™ para Recuento de <i>E. coli</i> /Coliformes.....	14
<b>Gráfico 5.</b> Placas Petrifilm™ selectivo para <i>E. coli</i> .....	16
<b>Gráfico 6.</b> Pasos para el recuento de <i>E. coli</i> /coliformes .....	47
<b>Gráfico 7.</b> Hisopos utilizados en las pruebas luminométricas. ....	49
<b>Gráfico 8.</b> Pasos para el método del hisopo.....	50
<b>Gráfico 9.</b> Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza pre-operacional ( <i>E. coli</i> ).....	56
<b>Gráfico 10.</b> Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza post-operacional ( <i>E. coli</i> ) .....	58
<b>Gráfico 11.</b> Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza pre-operacional ( <i>coliformes totales</i> ).....	62
<b>Gráfico 12.</b> Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza pre-operacional ( <i>coliformes totales</i> ).....	64
<b>Gráfico 13.</b> Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza pre-operacional ( <i>aerobios totales</i> ).....	68
<b>Gráfico 14.</b> Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza pre-operacional ( <i>aerobios totales</i> ).....	70

## RESUMEN

El propósito de este trabajo experimental es validar la influencia de la aplicación de los procedimientos sanitarios estandarizados de trabajo (PNT) - Condiciones y superficies de contacto (POES 2) para determinar si se hace correctamente el proceso de limpieza y desinfección en un deshuesado empresa de ganado por microbiológica petrifilm de prueba para determinar las bacterias aerobias mesófilas, *Escherichia coli*, coliformes totales; prueba de bioluminiscencia usando Además luminómetro, donde los criterios de aceptación y rechazo de alerta establecidos para detectar superficies muestreadas carga orgánica.

Las superficies de contacto analizados durante el trabajo experimental estaban limpiando la banda, ganchos de metal, tablas, escalas y limpieza de banda de 2limpieza de inyector; ya que son fuentes potenciales de contaminación cruzada.

Para determinar la influencia de la aplicación de los procedimientos operativos estándar de saneamiento (SOP) - Condiciones y superficies de contacto (POES 2) el diseño es completamente al azar, dispuestos en un experimento factorial 2x5 con 5 observaciones.

**Palabras clave:** luminometría, validar, POES, *bacterias aerobias mesófilas*, *Escherichia coli*, *coliformes totales*.

## ABSTRACT

This experimental work purpose is to validate the influence of the application of Standardized Sanitation Operating Procedures (SOPs) - Conditions and contact surfaces (POES 2) to determine if done correctly the cleaning of process and disinfection in a company deboning of cattle by microbiological testing petrifilm for determining *aerobic mesophilic* bacteria, *Escherichia coli*, the *total coliforms*.

The contact surfaces analyzed during the experimental work were cleaning the band, metal hooks, cleaning tables, scales and band injector cleaning; as they are potential sources of cross contamination.

For determine the influence of the Sanitation Standard Operating Procedures (SOPs) implementation - Conditions and contact surfaces (POES 2) the design is completely randomized, arranged in a 2x5 factorial experiment with 5 observations.

In addition bioluminescence test using luminometer where acceptance criteria established alert and rejection to detect organic load sampled surfaces.

**Keywords:** Luminometry, validate, POES, aerobic mesophilic bacteria, *Escherichia coli*, total coliforms.

## 1 INTRODUCCIÓN

Las industrias han decidido tomar medidas higiénicas en cada una de las fases de la cadena productiva de un producto por lo que se han desarrollado métodos de prevención eficaces que permiten la reducción de los peligros que pueden representar riesgo para el consumidor.

La seguridad alimentaria se consigue mediante prácticas sanitarias adecuadas que los colaboradores de una industria deben tomar conciencia y aplicarlos. Para entender mejor el papel que juega la limpieza y desinfección de los equipos y utensilios, se debe conocer el mecanismo por el que se pueden convertir en medio de transmisión de enfermedades, así como cuales, son los factores desencadenantes para poder evitarlos.

Los equipos y utensilios pueden albergar gran cantidad de contaminantes que dan lugar al crecimiento de microorganismos. Por esta razón, el material del que están fabricados deben permitir la fácil limpieza y desinfección del mismo impidiendo que exista contaminación cruzada entre el equipo o utensilio y el alimento.

Los métodos tradicionales son más laboriosos porque requieren la preparación de la muestra, esterilización del material, personal capacitado, equipos como incubadoras, autoclaves, etc., sin mencionar los largos períodos de incubación al igual que el empleo de cultivos de enriquecimiento o de recuperación por lo que en la actualidad se han desarrollado nuevas técnicas de recuento donde de manera rápida y efectiva se busca ahorrar tiempo, dinero y utilizar el menor número de procedimientos y ensayos para la obtención de resultados confiables. Entre estas novedosas técnicas se incluyen métodos como Elisa que es inmunoenzimático, inmunomagnético, bioluminiscencia del ATP o también llamado luminometría y las técnicas de recuento en placa como Petrifilm, etc.



La forma rápida y común para evaluar la desinfección en elementos y superficies en contacto con los alimentos es la inspección visual, lo cual da un carácter subjetivo a la evaluación del nivel de desinfección, aunque también existe un método más puntual que evalúa el nivel de bioluminiscencia de adenosín trifosfato (ATP) mediante un equipo llamado luminómetro.

Debido a la gran importancia y preocupación por la higiene ya que es una herramienta clave para asegurar la inocuidad en la manipulación de los productos, el Ecuador comenzó una política gubernamental, emitiendo la norma de Buenas Prácticas de Manufactura siendo la actual la normativa 067-2015-GGG, la cual menciona en el artículo 179 Condiciones Sanitarias para los Equipos, Utensilios y Superficies en Contacto Directo con Alimentos, para garantizar que las operaciones se realicen higiénicamente desde la llegada de la materia prima hasta la obtención del producto terminado.

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 General**

Elaborar pruebas microbiológicas y luminométricas para validar la aplicación de los procedimientos operacionales estandarizados de saneamiento (POES) - condiciones y superficies de contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses.

### 1.1.2 Específicos

- Realizar pruebas microbiológicas para validar la aplicación del POES 2 en el proceso de desposte de reses de una empresa de productos cárnicos.
- Realizar pruebas luminométricas para validar la aplicación del POES 2 en el proceso de desposte de reses de una empresa de productos cárnicos.

### 1.2 Hipótesis

**Hipótesis nula (Ho):** Las pruebas microbiológicas y luminométricas validan la aplicación de los Procedimientos Operacionales Estandarizados de Saneamiento (POES) - Condiciones y Superficies de Contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses.

**Hipótesis alternativa (Ha):** Las pruebas microbiológicas y luminométricas no validan la aplicación de los Procedimientos Operacionales Estandarizados de Saneamiento (POES) - Condiciones y Superficies de Contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses.

## **2 MARCO TEÓRICO**

### **2.1 Procesamiento industrial de la carne**

En todas las etapas del proceso de desposte de reses se debe garantizar la inocuidad del producto, por lo que se toman precauciones en cuanto a la higiene y limpieza del personal tanto operarios como visitas que ingresan a la planta, al igual que la limpieza y desinfección de las instalaciones, equipos y utensilios (reses, 2015).

Se controla aquellos insumos que se encuentran en contacto directo con el alimento, como el uso y dosificación de químicos dentro el proceso, tiempo y temperatura. (Ver Anexo 2).

El proceso comienza cuando los camiones llegan a la planta de procesamiento con la materia prima y finaliza cuando el producto terminado es cargado en furgones para su transporte y posterior comercialización (reses, 2015).

#### **2.1.1 Recepción y enfriamiento de medias canales**

El proceso inicia con el ingreso de las medias canales al área de recepción donde se realizan análisis organolépticos y microbiológicos, junto con las condiciones en las que llega la materia prima. Personal de producción se encarga en bajar las medias canales para engancharlas, pesarlas y extraerles los sellos que son colocados por el camal. Si la materia prima no cuenta con las condiciones se determina su estado y se rechaza la media canal que presente el defecto. La temperatura a la que llegan las reses de los camales es de máx 40 °C mientras que la temperatura ambiente oscila entre los 0-3 °C, donde los operadores controlan el pH a la que llegan las medias canales (reses, 2015).

### **2.1.2 Pesado**

Las medias canales con la ayuda de un gancho metálico de acero inoxidable son pesadas en una balanza romana y se eliminan los excesos de grasa que pudiesen existir. No se aceptan medias canales que ingresen con bajo peso; la temperatura óptima debe estar a máx. 40 °C, con una temperatura ambiental de 0-3 °C. En esta etapa del proceso, se coloca un ticket que indica el lote del producto que está conformado por la semana de producción, mes, hora, minuto y segundo de producción, día de producción, código del producto y orden de compra (reses, 2015).

### **2.1.3 Desinfección de medias canales**

La carne es desinfectada por aspersion a temperatura ambiente con una solución clorada para reducir su carga microbiana y son llevadas por medio de los ganchos de acero inoxidable a la cámara de enfriamiento para bajar la temperatura interna; la temperatura del producto debe estar a 4 a 8 °C. El personal de Calidad controla la temperatura y las condiciones organolépticas del mismo (reses, 2015).

### **2.1.4 Desposte**

El personal del área al momento de realizar sus labores está provisto de guantes de acero, guantes de nitrilo, chaira y cuchillo para, los cuales son desinfectados cada dos horas. Debe ser desinfectado todo producto o utensilio que cae al piso, para luego ser usado en proceso; como medida preventiva en el área existen dos gavetas con una solución clorada que reduce el crecimiento bacteriano en los cortes de carne (reses, 2015).

En esta etapa del proceso, se obtienen los diferentes cortes como pulpa prieta, pulpa blanca, pajarilla, lomo fino, lomo de asado, salón; mientras que de los brazos se obtiene como carne pura, carne de estofado, costilla, rabo mientras que de la pierna y brazo salen hueso blanco y hueso carnudo. Los cortes son limpiados y rociados con solución desinfectante para la disminución del crecimiento bacteriano de la carne. La temperatura del área esta entre 10 a 12 °C y la de la carne esta entre 8 a 10 °C (reses, 2015).

### **2.1.5 Inyección de salmuera**

Los cortes al salir de la limpieza son transportados mediante banda a la máquina inyectora, donde se inyecta salmuera por medio de agujas a la carne para ablandar los tejidos musculares para disminuir la merma y obtener una textura adecuada. Antes de inyectar a los cortes, se verificar la temperatura de la salmuera y las condiciones de las agujas de la máquina debiendo estar completas y en buen estado; tanto al inicio como al final de la inyección. La carne debe estar reposada y fría a una temperatura de alrededor 8 a 10°C para así lograr una buena retención. El producto a inyectar se coloca en una banda la cual transporta los cortes hacia las agujas de la máquina hasta la salida del mismo donde el producto final es pesado, para poder obtener un porcentaje exacto entre la carne y sin inyectar y la inyectada. (reses, 2015)

### **2.1.6 Empacado al vacío**

El producto es empacado al vacío en fundas de PEBD donde se revisa las condiciones del empaque y sellado al igual que el correcto funcionamiento de la máquina para asegurar las condiciones organolépticas y microbiológicas del producto. Al salir de esta etapa, se coloca al producto un ticket de producto

terminado y se verifica que la información del ticket sea correcta, además de las condiciones de las gavetas donde es colocado el producto (reses, 2015).

### **2.1.7 Almacenamiento y despacho de producto**

El producto terminado es almacenado en cámara a una temperatura de 3-6 °C, con un período de permanencia máximo de hasta 4 días para su despacho. El personal de calidad se encarga de revisar la temperatura, condiciones organolépticas del producto, tipo de carne a despachar y la temperatura de la cámara en el momento del mismo. Se debe garantizar la limpieza y desinfección de los mismos. No se permite la carga si los camiones no se encuentran limpios y desinfectados (reses, 2015).

## **2.2 Tipos de contaminación: contaminación directa y contaminación cruzada**

Los manipuladores de alimentos pueden contaminar de manera directa o indirecta. La contaminación directa se origina debido a una manipulación deficiente del alimento en algún punto de la cadena alimentaria o también puede estar presente de forma natural, por ejemplo, cuando alimentos listos para ser consumidos contactan con alimentos crudos; la contaminación cruzada se origina cuando el alimento se encuentra contaminado provoca la contaminación de un alimento sano, teniendo lugar cuando los microorganismos presentes en alimentos crudos pasan al alimento por contacto de utensilios, manos o mala manipulación del personal (Chen, 2004).

## **2.3 Microorganismos indicadores en la industria de alimentos**

Las industrias alimenticias realizan análisis microbiológico como parte de su proceso para determinar la posibilidad de existencia de microorganismos causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's) u otros riesgos asociados al crecimiento bacteriano, por lo que es de gran importancia establecer la seguridad y calidad tanto organoléptica como microbiológica de los alimentos.

### **2.3.1 *Escherichia coli***

La presencia de este microorganismo indica la posible presencia de patógenos entéricos en el agua, en los moluscos, en los productos lácteos y en otros alimentos. La enumeración de *E. coli* en los alimentos pueden estar influenciados por otros factores, tales como la multiplicación del microorganismo, su muerte o inactivación o su adherencia a las partículas del alimento. Con todo, cifras sustanciales de *E. coli* en un alimento sugieren una falta general de limpieza en el manejo del mismo y un almacenamiento inadecuado (Catalunya, 2013).

### **2.3.2 *Aeróbios mesófilos***

Lo conforman todas las células vegetativas, las esporas de bacterias, levaduras y hongos que crecen en presencia de oxígeno y a una temperatura determinada. Recuentos altos de *aerobios mesófilos* en alimentos estables a menudo indican que las materias primas se encuentran contaminadas mientras que en productos perecederos puede indicar condiciones inadecuadas durante su almacenamiento. Para los productos que se encuentran a temperatura ambiente se analizan los microorganismos mesófilos y para los que se encuentran en refrigeración, los psicrófilos (Catalunya, 2013).

### **2.3.3 Coliformes totales**

Son bacterias del grupo *coliforme*, que fermentan la lactosa a 35 °C, en menos de 48 horas produciendo ácido y gas. Incluye los géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Durante mucho tiempo se consideraron evidencia de contaminación fecal, pero se ha demostrado que muchos de ellos pueden vivir e incluso crecer en el suelo, el agua y otros ambientes. Actualmente es considerado en los procesos de sanitización y desinfección como indicador de la eficiencia, así como de calidad sanitaria en alimentos. En este tipo de bacteria se utiliza comunmente el método del número más probable (NMP ó MPN por sus siglas en inglés) siendo un método estadístico que permite el hallazgo de coliformes en cantidades muy bajas (Catalunya, 2013).

También se pueden detectar por cuenta en placa utilizando agar bilis-rojo violeta (ABRV ó RVBA por sus siglas en inglés) en el cual las colonias fermentadoras de lactosa causan el vire del indicador; y por último por filtración en membrana (Millipore) e incubación en medios adecuados, por métodos rápidos como Petrifilm™. (M. Pierson, 2001)

## **2.4 Control microbiológico de superficies**

El control microbiológico de superficies nos brinda información sobre la cantidad de microorganismos presentes en superficies; entre los métodos más comunes se encuentran:



### 2.4.1 Técnica de hisopado

Se utiliza este tipo de método para la toma de muestras donde el hisopo estéril es humedecido en un diluyente como el agua peptonada o buffer y se frota en direcciones distintas sobre la superficie a evaluar; rotándolo ligeramente (Michanie, 2012).

Se toman alícuotas para ser sembradas, donde se incuban por un lapso de 24 horas a una temperatura entre 37 °C a 48 °C; luego de esto se cuenta el número de colonias que se formaron calculando el número de UFC/área analizada. (Michanie, 2012)

Los residuos de productos que permanecen en la superficies después de su limpieza son una fuente de nutrientes para los microorganismos por lo que el uso del luminómetro junto con los hisopos sirven para medir los niveles de contaminación en superficies, por lo que se utiliza la tecnología de detección de Adenosín Trifosfato (ATP) por bioluminiscencia que mide la intensidad de la luz emitida por una muestra, representada en unidades de luz relativa (RLU). (Care, 3M, 2015)

**Gráfico 1.** Hisopos CLEAN-TRACE 3M

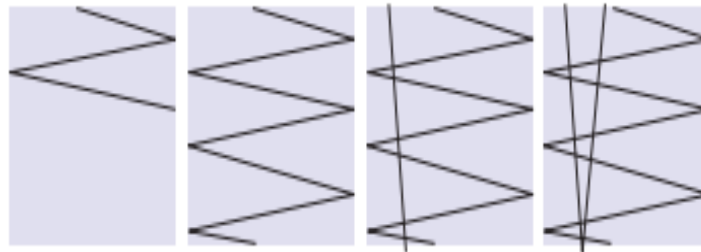


**Fuente:** Brochure CLEAN-TRACE, 3M.

Disponibile en: <http://solutions.productos3m.es>

Se puede apreciar en el gráfico 2, el método de frotis del hisopo que se muestra a continuación:

**Gráfico 2.** Método de frotis del hisopo.



**Fuente:** 3M.

Disponible en: <http://multimedia.3m.com>

Se recomienda que el área a muestrear sea 10x10 cm<sup>2</sup>. Tomar el hisopo por la parte superior del mismo y sin tocar la parte blanca. Se debe además hisopar de manera horizontal de un lado a otro, luego continuar el hisopado por toda la superficie. Finalmente repetir el procedimiento en forma vertical y luego continuar el hisopado por toda la superficie (3M, Guía de Monitoreo de higiene por Bioluminiscencia, 2012).

#### **2.4.2 Método de Bioluminiscencia**

Este método es una alternativa a los procedimientos de control de calidad microbiológicos en las industrias brindando resultados rápidos, exactos a través una operación sencilla.

La Bioluminiscencia se basa en la detección del ATP (Adenosin Trifosfato), molécula energética de todos los organismos vivos. Este es un fenómeno natural que ocurre en muchas algas y bacterias acuáticas, así como en la luz producida por las luciérnagas. Las cuales poseen una enzima llamada Luciferin-

Luciferasa que al combinarse con el ATP producen luz. (Ver Anexo 14) (3M, CLEAN TRACE. La Solución para el Monitoreo de Higiene , 2011).

Si colocamos la luciferina + luciferasa en un hisopo y el ATP es provisto por una muestra (hisopado) podemos medir el ATP cuantificando la LUZ producida en la reacción. La validación de limpieza por Bioluminiscencia es un método rápido que permite verificar los niveles de residuos orgánicos, células vivas y muertas, plantas y vegetales, bacterias, levaduras y mohos, alimentos, etc. (Alimentaria, 3M, 2009)

El instrumento utilizado para medir la luz emitida se denomina Luminómetro y la unidad de medida para la luz emitida es RLU (unidades relativas de luz). La bioluminiscencia permite obtener resultados en apenas 15 segundos lo que representa una ventaja respecto a los métodos tradicionales en microbiología que ofrecen resultados a las 24-48 horas. Permite controlar los puntos de control antes de comenzar la producción asegurando los niveles más bajos de microorganismos en el producto terminado (CHEMICAL CENTER, 2013).

### **2.4.3 Método Petrifilm™**

Es un método microbiológico que consiste en placas listas para usarse reduciendo costes de mano de obra, el tiempo de análisis permitiendo una mayor productividad del analista brindando resultados precisos en las etapas de siembra, incubación y recuento obteniendo mayor eficiencia y estandarización de la técnica lo que permite que los resultados sean consistentes y fiables. Su diseño está compuesto por una película rehidratable que está cubierta con nutrientes y agentes gelificantes; este tipo de placas es aplicable en el recuento de *aerobios*, recuento de *coliformes*, recuento de ***E. Coli/coliformes***, recuento de mohos y levaduras y *Listeria* en ambientes (3M Solutions, 2011).

El diseño de la placa Petrifilm™ está compuesto de:

- **Film superior:** Film de plástico cubierto con un indicador y un gel soluble en agua fría.
- **Film inferior:** Papel cuadriculado cubierto con un plástico adhesivo, nutrientes de métodos estándar, gel soluble en agua fría (3M Solutions, 2011).

#### **2.4.3.1 Placas Petrifilm™ para recuento de *Aerobios mesófilos* y bacterias ácidas lácticas.**

Es un medio de cultivo que contiene nutrientes del Agar Standard Methods, que es un gelificante soluble en agua fría y contiene un tinte indicador de color rojo (tetránil tetrasolium clorado TTC) que permite el recuento de colonias. Este tipo de placa brinda resultados rápidos y precisos con tres pasos sencillos: inocular, incubar y contar (CHEMICAL CENTER, 2011).

Las placas petrifilm™ para recuento de aerobios determinan la población de bacterias aerobias aunque también puede usarse para verificación de bacterias lácticas. Las colonias aparecen claramente a las 48 horas, encontrándose teñidas de rojo (3M, 2014) (Ver anexo 13).

**Gráfico 3.** Placas Petrifilm™ para recuento de Aerobios mesófilos y bacterias ácidas lácticas.



**Fuente:** Guía de interpretación Petrifilm™ para placas para recuento total de aerobios, 3M. Disponible en: <http://multimedia.3m.com>

#### 2.4.3.2 Placas Petrifilm™ para Recuento de *E. coli*/Coliformes

**Gráfico 4.** Placas Petrifilm™ para Recuento de *E. coli*/Coliformes



**Fuente:** Guía de interpretación Petrifilm™ para placas para recuento de coliformes, 3M. Disponible en: <http://multimedia.3m.com>

Las placas Petrifilm™ *E. coli/Coliformes* (CC) contienen los nutrientes del Violeta Rojo Bilis (VRB) modificado, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. El film superior atrapa el gas producido por la fermentación de la lactosa por los *coliformes* (3M, 2004).

Este tipo de placa brinda resultados rápidos y precisos con tres pasos sencillos: inocular, incubar y contar. Los resultados aparecen claramente en apenas 22 horas, en *E. Coli*, las colonias entre azules y rojo-azules se asocian al gas atrapado mientras que en coliformes son colonias rojas asociadas con burbujas de gas (3M, 2004).

#### **2.4.3.3 Placas Petrifilm™ selectivo para *E. coli***

Este tipo de placas son un método efectivo para evaluar ambientes, tales como superficies de contacto con alimentos después de su procesamiento para determinar de manera rápida las posibles fuentes de contaminación (3M, 2014).

Las placas Petrifilm™ selectivo para recuento de *E. coli* están formados por un tinte de indicación y la cuadrícula incorporada permite identificar las colonias de manera rápida y precisa; por lo que no se precisan tubos ni aparataje para la obtención de un resultado confirmado. Este tipo de placas aporta información para recuento de *E. coli* con resultados confirmados en 24-48 horas. (3M, 2014)

**Gráfico 5.** Placas Petrifilm™ selectivo para *E. coli*



**Fuente:** Guía de interpretación Petrifilm™ para placas para recuento de *E. coli*, 3M.  
Disponible en: <http://multimedia.3m.com>

#### **2.4.3.4 Detección de adenosin trifosfato en el método de bioluminiscencia**

El ATP es el principal donador de energía en los sistemas biológicos, es un nucleótido constituido por una adenina, una ribosa y una unidad trifosfato; constituye una molécula rica en energía ya que su unidad trifosfato contiene dos enlaces fosfoanhidridos (Dávila & Díaz, 2014).

La liberación de fosfato de ATP es exotérmica (reacción que emite calor) y la reacción a la que se conecta es endotérmica (requiere entrada de energía). El ATP reacciona con el complejo enzimático luciferin-luciferasa produciendo un nivel de intensidad de luz, por lo que la concentración de ATP en la superficie es directamente proporcional a la intensidad de la luz producida, la cual se expresa en unidades relativas de luz (URL). El nivel de bioluminiscencia de ATP es la carga biológica que se encuentra presente en una superficie o elemento, con capacidad de permitir el crecimiento de microorganismos. (Dávila & Díaz, 2014)

## **2.5 Plan de limpieza, desinfección, higiene y sanitización**

Toda empresa enfocada al sector alimenticio, debe llevar un plan de limpieza y desinfección, el que tiene como objeto asegurar la seguridad de los alimentos ya que las superficies y equipos que se encuentran en contacto con los alimentos suponen un peligro de contaminación microbiológica al igual que la presencia de residuos de productos químicos usados en las limpiezas operacionales (Hurtado, 2013).

Los operadores deben llevar hábitos saludables como usar ropa limpia, protección para manos y cabellos para evitar ser causantes de contaminación. Para elaborar el Plan L+D es necesario definir los productos químicos a emplearse, la metodología y material que se va usar, además de la frecuencia y responsable de llevar dicha operación (Hurtado, 2013).

### **2.5.1 Desinfección**

Es un conjunto de acciones empleado para la destrucción o eliminación de bacterias de origen entérico en su mayoría saprofitos presentes en el lugar de trabajo (Pino & Solis, 2013).

Existen diferentes métodos de desinfección entre los cuales están:

**Desinfección física:** Como el calor, calor húmedo, luz ultravioleta; de todos los agentes desinfectantes el calor es el método más efectivo.

**Desinfección química:** Como los desinfectantes que se pueden aplicar en superficies inertes teniendo en cuenta el tipo de microorganismo a eliminar; su mecanismo de acción depende de la capacidad para alterar las características de permeabilidad celular, precipitación de proteínas y toxicidad de los sistemas enzimáticos de las proteínas. La eficacia de los desinfectantes depende del



tamaño y composición de la población, concentración del agente y de la materia orgánica en las superficies a tratar, temperatura (Pino & Solis, 2013).

Los niveles de desinfección son los siguientes:

- Nivel alto: Destruye todos los microorganismos excepto la alta carga de esporas bacterianas.
- Nivel intermedio: Inactiva bacterias vegetativas, en mayor parte a las bacterias y hongos.
- Nivel bajo: Puede destruir la mayor parte de bacterias, virus y algunos hongos pero no puede eliminar microorganismos resistentes como las esporas bacterianas (Loayza, 2011).

### **2.5.2 Requisitos que debe cumplir un buen desinfectante**

Un buen desinfectante debe cumplir con las siguientes propiedades:

- No deben producir olor, sabor, color extraños al ser absorbido o reaccionar con el alimento.
- No debe ser tóxico a las dosis de empleo.
- No deben ejercer una acción perjudicial sobre las superficies a tratar.
- Ser efectivo en las condiciones de temperatura, tiempo de contacto, pH y grado de contaminación en que debe ser utilizado.
- Debe ser estable y fácilmente soluble en agua.
- Baja relación coste/eficacia.
- Ser eficaz sobre el espectro de microorganismos a tratar.
- Ser eficaz en cualquiera que sea la calidad del agua empleada e incluso de presencia de materia orgánica.
- Conseguir la eliminación, reducción de gérmenes presentes en el área determinada (INA, 2007).

### **2.5.3 Limpieza**

Consiste en retirar la suciedad que está presente visible en equipos y utensilios dentro de las industrias alimenticias, que tiene por objeto la remoción de residuos e impurezas para reducir el número de microorganismos que pueden estar en contacto con el producto. Los métodos de limpieza dependen del tipo de superficie, cantidad y tipo de material orgánico presente (Castiblanco, 2008).

### **2.5.4 Higiene**

Se define como los hábitos de conducta sanitaria que surgen dentro del lugar de trabajo; existen diferentes agentes que pueden causar daños en el personal de una industria, pudiendo ser agentes físicos como temperatura y presión, químicos como productos de limpieza, sustancias tóxicas y biológicos como bacterias, virus y hongos (Castiblanco, 2008).

### **2.5.5 Sanitización**

Es la disminución de microorganismo presentes en un área determinada por medio de agentes, en su mayor parte químicos. Existen tres métodos básicos para la sanitización de maquinaria e instalaciones como es la aplicación de calor, aplicación de luz ultravioleta y aplicación de productos químicos; este último método es el más aplicado en las industrias como lo son los clorados, hipocloritos de sodio y cloraminas (Castiblanco, 2008).

## **2.6 Procedimientos y métodos de limpieza**

La limpieza se puede realizar utilizando métodos físicos ya sea por separado o conjuntamente, como al utilizar calor u otros métodos que evitan el uso del agua, y métodos químicos, en los que se emplean detergentes, álcalis o ácidos.

Los procedimientos de limpieza se basan en eliminar los residuos visibles de las superficies y mediante el uso de una solución detergente desprender la suciedad debiéndose enjuagar con agua para eliminar los residuos de detergente que pudieran existir; en caso de ser necesario lavar en seco o aplicar otros métodos apropiados para quitar y recoger residuos y desechos; y desinfectar, en caso necesario. (Alimentarius, 2009)

## **2.7 Programas de limpieza**

Los programas de limpieza y desinfección deben asegurar que las instalaciones estén debidamente limpias, incluyendo la limpieza del equipo de limpieza.

Se debe vigilar de manera constante la eficacia de los programas de limpieza y desinfección. Dentro los programas de limpieza, es necesario mencionar el tipo de superficie a limpiar, el equipo y utensilios a necesitar, personal encargado en realizar la operación, responsabilidad, método y frecuencia de la limpieza junto con las medidas de vigilancia. (Alimentarius, 2009)

## **2.8 Normativas para el control de calidad e inocuidad**

### **2.8.1 Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP)**

El Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control es un proceso sistemático preventivo de aplicación para todo tipo de industrias el cual identifica, evalúa y previene todos los posibles riesgos de contaminación en los productos ya sea a nivel físico, químico y biológico a lo largo de su proceso permitiendo establecer

medidas preventivas y correctivas para garantizar la inocuidad alimentaria (Alimentarius, 2009).

El HACCP nace con el objetivo de desarrollar sistemas que brinden un alto nivel de garantías sobre la seguridad e inocuidad de los alimentos siendo un sistema de gestión de seguridad alimentaria aplicable a todo establecimiento alimentario para la obtención de la certificación. Para que la aplicación del sistema de HACCP dé buenos resultados, debe haber compromiso y participación de la dirección tanto como el personal (Alimentarius, 2009).

#### **2.8.1.1 Principios HACCP**

El Sistema de HACCP consiste en siete principios básicos con los que las industrias garantizan la calidad e inocuidad de sus productos. (Alimentarius, 2009)

Dichos principios son los siguientes:

- **PRINCIPIO 1:** Realizar un análisis de peligros.
- **PRINCIPIO 2:** Determinar los puntos críticos de control (PCC).
- **PRINCIPIO 3:** Establecer un límite o límites críticos.
- **PRINCIPIO 4:** Establecer un sistema de vigilancia del control de los PCC.
- **PRINCIPIO 5:** Establecer las medidas correctivas que han de adoptarse cuando la vigilancia indica que un determinado PCC no está controlado.
- **PRINCIPIO 6:** Establecer procedimientos de comprobación para confirmar que el Sistema de HACCP funciona eficazmente.
- **PRINCIPIO 7:** Establecer un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y los registros apropiados para estos principios y su aplicación (SAE, 2014).

## **2.8.2 Buenas Prácticas de Manufactura**

Son principios básicos y prácticas generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, envasado y almacenamiento de alimentos destinados para consumo humano, para garantizar que su fabricación se realice en condiciones sanitarias adecuadas permitiendo disminuir los riesgos inherentes a la producción (Productividad, 2014).

Las Buenas Prácticas de Manufactura son herramientas útiles para la mejora de la calidad y seguridad alimentaria dentro de una industria, mejorando no sólo los aspectos de, cruciales en cualquier proceso alimentario, sino que además, en aspectos generales de la calidad. (Román, 2007)

Los planes de monitoreo cada vez son más aplicados en la industria alimentaria, convirtiéndose en los últimos años necesarios como un requisito necesario para la obtención del permiso de funcionamiento (Medina, 2011).

La resolución del ARCSA-DE-067-2015-GGG, indica que son un conjunto de medidas preventivas y prácticas generales de higiene en la manipulación, preparación, elaboración, envasado y almacenamiento de alimentos para consumo humano, con el objeto de garantizar que los alimentos se fabriquen en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyan así los riesgos potenciales o peligros para su inocuidad (Arcsa, 2015).

El certificado de buenas prácticas de manufactura es un documento expedido por los Organismos de Inspección acreditados, al establecimiento que cumple con todas las disposiciones establecidas en la presente normativa técnica sanitaria (Arcsa, 2015).

### **2.8.3 Norma peruana guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.**

Esta norma tiene por finalidad asegurar la calidad sanitaria en la fabricación, elaboración y expendio de alimentos y bebidas que están destinadas para el consumo humano; entre sus objetivos principales está en establecer los límites microbiológicos para evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes que entran en contacto con alimentos y bebidas junto con uniformizar los procedimientos que se deben aplicar en la selección y toma de muestra para el análisis microbiológicos de superficies vivas e inertes (Oficial, 2007).

**Superficies inertes:** Son las partes externas y/o internas de los utensilios que se encuentran en contacto con alimentos mientras que las superficies vivas son las partes externas del cuerpo humano que entran en contacto con el equipo, utensilios y alimentos durante su elaboración y consumo. (Oficial, 2007)

**Superficies vivas:** Son los manipuladores de alimentos que con o sin guantes están en contacto directo con alimentos.

Como se puede observar, la Tabla 1 indica los métodos de muestreo según Norma Resolución Peruana Ministerial N° 0568 – 200.

**Tabla 1.** Métodos de muestreo según Norma Resolución Peruana Ministerial N° 461 – 2009.

<b>MÉTODO DE MUESTREO</b>	<b>SUPERFICIES A MUESTREAR</b>
<b>Hisopo</b>	Se utiliza superficies inertes regulares e irregulares, tales como tabla de picar, bandejas, mesas de trabajo, utensilios, cuchillos de equipos, cortadora de embutidos, cortadora de pan de molde, bandas transportadoras, tolvas, mezcladoras, pisos, paredes.
<b>Espanja</b>	Se utiliza de preferencia para el muestreo de superficies que posean una mayor área.
<b>Enjuague</b>	Se utiliza para superficies vivas como manos, para objetos pequeños y para el muestreo de superficies interiores de envases, bolsas plásticas, etc.

**Fuente:** Norma Resolución Peruana Ministerial N° 461- 2009. Disponible en [http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma\\_consulta/proy\\_microbiologia.htm](http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm)

A continuación, en la Tabla 2 se indica los criterios microbiológicos para superficies inertes de la norma Resolución Peruana Ministerial N° 461-2007/MINSA. "Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con los alimentos y bebidas".

**Tabla 2.** Requisitos microbiológicos para superficie inerte

<b>AGENTE MICROBIANO</b>	<b>Limite Permisible UFC/cm<sup>2</sup></b>
Coliformes totales	<1
E. Coli	Ausencia

**Fuente:** Norma Resolución Peruana Ministerial N° 461- 2009. Disponible en [http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma\\_consulta/proy\\_microbiologia.htm](http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/proy_microbiologia.htm)

#### **2.8.4 Procedimientos operacionales estandarizados de sanitización (POES)**

Son procedimientos que al ser aplicados garantizan la inocuidad de un producto, teniendo como objetivo principal enfatizar las rutinas de limpieza para la conservación de las condiciones higiénicas durante el procesamiento de los alimentos. A través de estos, se explica paso a paso las actividades de limpieza, sanitización y control del entorno (Seafood HACCP Alliance course Sea Grant, 2000).

La implementación de los POES permite evitar el ingreso de los contaminantes que pueden estar al contacto con el alimento, aumentar la efectividad del sistema HACCP, identificación y prevención de problemas, proporcionar evidencia a los proveedores acerca las condiciones higiénicas de manufactura, etc (Rivera, 2003). Cabe mencionar que los POES tienen que ser revisados, evaluados y modificados cuando sea necesario, para mantener su efectividad y reflejar los cambios en las instalaciones, los equipos, las operaciones y el personal (Stevenson, 2010).

La realización de los POES son requeridas por las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y por normas internacionales, ya que su aplicación contribuye a garantizar el mantenimiento de los niveles de calidad teniendo



como propósito, además de suministrar un registro que demuestre el control del proceso, minimizar o eliminar errores y riesgos en la inocuidad alimentaria asegurando que la tarea sea realizada en forma segura (Quintela & Paroli, 2013).

#### **2.8.4.1 La FDA y las ocho POES**

Generalmente en las industrias que se dedican a la elaboración de alimentos, se toman en cuenta los 8 POES para su debida implementación; sin embargo en este estudio solo se tendrá en consideración el POES 2 (Limpieza de las superficies de contacto con el alimento). A continuación se explicará de manera breve sobre cada uno de ellos.

##### **2.8.4.1.1 POES 1: Seguridad del agua**

El agua empleada para el procesamiento, contacto con utensilios o superficies y elaboración de hielo deberá proceder de una fuente limpia. Es de gran riesgo microbiológico la contaminación por agua, además puede minimizar o alterar los efectos de la higienización. El riesgo de contaminación física y más aún química es evidente también. Se requieren de procedimientos y registros que comprueben lo que ocurre con el agua y de dónde ésta viene (Service, 2014).

##### **2.8.4.1.2 POES 2: Limpieza de las superficies de contacto con el alimento**

Los principales riesgos son el de contaminar al alimento físicamente por corrosión de las superficies, químico por mal uso de concentraciones, y biológica por formación de nichos y/o biofilms microbianos. Así mismo debe tener una duración y periodicidad adecuadas. Se contarán con registros escritos de lo que se realice (Service, 2014).

#### **2.8.4.1.3 POES 3: Prevención de la contaminación cruzada**

El principal objetivo que cita la FDA respecto a éste punto es el uso apropiado de elementos que se usan en el proceso y son relativamente ajenos al personal. Entre algunos ejemplos tenemos los guantes, botas, utensilios. Su uso, manejo, almacén y mantención también se estipulan (Service, 2014).

#### **2.8.4.1.4 POES 4: Higiene de los empleados**

Incluye principalmente las buenas normas de higiene que los empleados puedan tener; lavado de manos, uso y conformidad con sanitarios y salas de comedor. En cada ítem existe además documentación de cuál es la manera más oportuna y adecuada de hacerla. Así mismo se cuenta con registros y documentación correspondiente (Service, 2014).

#### **2.8.4.1.5 POES 5: Contaminación**

Es proteger a los alimentos y evitar cualquier riesgo de contaminación. Se hace referencia a riesgos físicos, químicos y biológicos, pero en mayor medida, a aquellos que son más evidentes. Éstos son, químicos como lubricantes, reactivos, ingredientes, etc., y físicos como metales y objetos gruesos en malas condiciones de almacén o manipulación (Service, 2014).

#### **2.8.4.1.6 POES 6: Agentes tóxicos**

Se basa en tomar precauciones en el manejo de concentraciones de químicos nocivos de toxicidad alimentaria y que pueden encontrarse también es superficies de contacto con el alimento.

Es distinto del SSOP2 en el cual se enfatiza mayormente al procedimiento y no a la toxicología con sus índices (Service, 2014).

#### **2.8.4.1.7 POES 7: Salud de los empleados**

Trata de prevenir el riesgo de contaminación microbiana por el personal, tanto al producto como a las superficies en contacto con éste. Cada empresa tendrá sus políticas y documentación médica, empero se aislará del proceso a cualquier persona con lesiones o heridas abiertas o que se sospeche de mal estado de salud con posibilidad de contaminación (Service, 2014).

#### **2.8.4.1.8 POES 8: Control de plagas y roedores**

Se debe excluir de la planta plagas como roedores, insectos y pájaros. Cualquiera constituye un alto riesgo de pérdida de inocuidad. Hay un sistema de control y erradicación de cada uno, sin embargo deben ser éstos permanentes y adecuaciones de planta que eviten la proliferación o ingreso de plagas y vectores (Service, 2014).

### 3 MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1 Ubicación del ensayo

El trabajo de titulación se desarrolló la empresa de desposte de reses en el recinto “El Consuelo” ubicado en el kilómetro 40 de la vía Guayaquil -Salinas de la provincia del Guayas, cuyas coordenadas son:

**Tabla 3.** Ubicación geográfica del lugar del trabajo experimental

COORDENADA	
Latitud	2°30'33" SUR
Longitud	80°13'30" ESTE

**Fuente:** Elaborado por la Autora

#### 3.2 Tiempo del ensayo

El presente trabajo se ejecutó durante los meses de Octubre 2015 hasta el mes de Enero del presente año, para lo cual las actividades básicas se desarrollaron del siguiente modo:

En la Tabla 4, se indica el cronograma de actividades realizados por la tesista durante el trabajo experimental.

**Tabla 4.** Cronograma de actividades realizadas durante el trabajo experimental.

<b>ACTIVIDAD REALIZADA</b>	<b>DURACIÓN</b>
Marco teórico	Octubre - Noviembre
Toma de datos	Diciembre
Procesamiento de datos	Enero
Informe final	Febrero

**Fuente:** Elaborado por la Autora

### 3.3 Materiales

Durante el desarrollo del trabajo experimental, se utilizaron los siguientes materiales:

- Computador portátil
- Materiales de oficina
- Tabla de apuntes
- Cámara fotográfica
- Cajas Petrifilm
- Hisopos para bioluminiscencia
- Tubos para determinar Escherichia coli
- Luminómetro
- Pipetas
- Puntas Estériles
- Tubos de ensayo con agua peptona
- Gradilla
- Guantes plásticos
- Mascarilla
- Redecilla para cabello
- Mandil

### 3.4 Diseño experimental

#### 3.4.1 Análisis de la varianza

El esquema del análisis de la varianza del diseño experimental utilizado se indica a continuación:

**Tabla 5.** Análisis de la varianza

ANDEVA	
F de V	GL
Tratamientos	9
Aseo	1
Contactos	4
A vs C	4
Error	40
Total	49

**Fuente:** Elaborado por la Autora

#### 3.4.2 Análisis funcional

Para realizar las comparaciones de los tratamientos se utilizó la prueba de rangos múltiples de **Duncan al 5 % probabilidades.**

### **3.5 Manejo del ensayo**

En las diferentes etapas del proceso de desposte de reses, se realizaron monitoreos continuos por parte del personal de la empresa y de la tesista para determinar los puntos de muestreo teniendo en cuenta la ubicación de la superficie, el tipo de material y el nivel de riesgo microbiológico. Como resultado, se obtuvo que, en las etapas de desposte, limpieza y desinfección e inyectado existe una continua manipulación entre el producto y las superficies de contacto por parte del personal operativo. Además por recomendación del jefe de calidad de la empresa consideró que los posibles riesgos de contaminación cruzada son los siguientes: banda de desposte, ganchos metálicos, banda de limpieza, balanza de limpieza y banda de inyectora; los que fueron sometidas a análisis microbiológicos y luminométricos (Ver Anexo 5).

Durante el manejo del trabajo experimental se aplicaron las Buenas Prácticas de Manufactura; la toma de muestras en las superficies de trabajo se las realizó al finalizar el proceso productivo y previo al inicio de la limpieza en las etapas seleccionadas.

Los análisis se realizaron por duplicado y el experimento se repitió cinco veces. Para realizar los análisis microbiológicos, se aplicó la metodología descrita en la norma peruana o Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas y para los análisis por bioluminiscencia se aplicó el uso del equipo CLEAN -TRACE de 3M.

#### **3.5.1 Pruebas microbiológicas**

Para la realización de las pruebas microbiológicas se procedió a deslizar un hisopo estéril por una superficie el hisopo en un medio de cultivo (1 ml de caldo letheen), de modo que las bacterias se queden suspendidas en el medio. A partir de esta suspensión se realizan diluciones de 1 ml de suspensión

bacteriana en 9 ml de agua peptonada con la intención de obtener resultados microbiológicos cuantificables, en este caso se realizaron diluciones en el rango de  $10^3$ . Luego, se siembra 1 ml de la dilución en el Petrifilm y se deja incubar por un lapso determinado de tiempo, dependiendo del en razón decimal con agua peptonada, la cual es un medio de enriquecimiento bacteriano. La temperatura y el tiempo de incubación depende de los microorganismos a identificar, los cuales fueron; *aerobios mesófilos*, *escherichia coli*, *coliformes totales* (Ver Anexo 10).

### **3.5.2 Planes de muestreo**

El muestreo de superficies se realizó al finalizar las operaciones y tras la limpieza y desinfección de toda la planta.

El horario de toma de muestra al finalizar las actividades fue entre las 16H00 de la tarde y el de la limpieza post operacional entre las 04H00 y 06H00 de la madrugada (Ver Anexo 3 y 4).

### **3.5.3 Tratamientos estudiados**

Los tratamientos utilizados para el estudio de validación microbiológica y luminométrica se realizaron en dos puntos de aseo, los cuales se indican a continuación:

- **A1:** Área Sucia
- **A2:** Área limpia



Para tener una mayor apreciación sobre las superficies muestreadas (Ver Anexo 6 y 7). Se estudiaron también 5 puntos en contacto con la limpieza y desinfección de las medias canales, los cuales se detalla de la siguiente manera:

- **C1:** Banda de Limpieza
- **C2:** Gancho metálico
- **C3:** Mesa de Limpieza
- **C4:** Balanza de Limpieza
- **C5:** Banda de inyectora

Las combinaciones de tratamiento se indican a continuación:

**Tabla 6.** Combinaciones de muestreo realizadas durante el desarrollo del trabajo experimental.

<b>N° TRATAMIENTOS</b>	<b>CONTACTO</b>	<b>PUNTOS DE MUESTRA</b>	
<b>1</b>	C1	A1	Punto 1
<b>2</b>	C1	A2	Punto 2
<b>3</b>	C2	A1	Punto 1
<b>4</b>	C2	A2	Punto 2
<b>5</b>	C3	A1	Punto 1
<b>6</b>	C3	A2	Punto 2
<b>7</b>	C4	A1	Punto 1
<b>8</b>	C4	A2	Punto 2
<b>9</b>	C5	A1	Punto 1
<b>10</b>	C5	A2	Punto 2

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Lo indicado generó un experimento factorial  $2 \times 5 = 10$  tratamientos con 5 observaciones.

### 3.5.4 Pruebas microbiológicas

Para la realización de las pruebas microbiológicas se procedió a deslizar un hisopo estéril por una superficie, de modo que las bacterias se queden suspendidas en el medio. A partir de esta suspensión se realizaron diluciones en rangos de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  rango de  $10^3$ . Luego, se sembró 1 ml de la dilución en el Petrifilm™ y se dejó incubar por un lapso determinado de tiempo. La temperatura y el tiempo de incubación depende de los microorganismos a identificar, los cuales fueron; *aerobios mesófilos*, *escherichia coli*, *coliformes totales* (Ver Anexo 10).

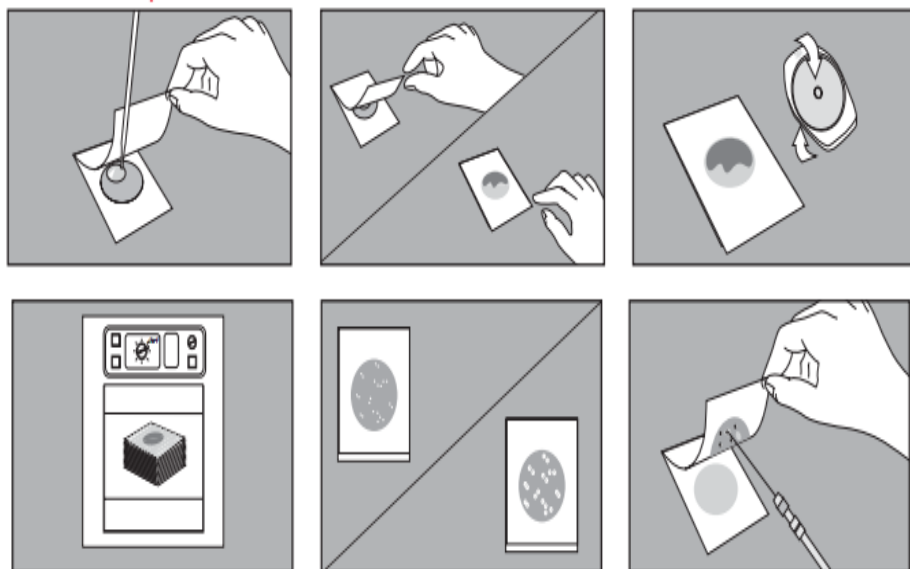
#### Procedimiento para la realización del método microbiológico

1. Deslizar el hisopo estéril en una superficies de aproximadamente 20 cm x20 cm.
2. Sumergir el hisopo en el caldo *letheen* y agitar un poco para facilitar la extracción de los microorganismos.
3. Rotular debidamente el tubo que contiene el hisopo con el medio de cultivo.
4. Rotular de forma clara y visible las placas de Petrifilm™.
5. Tomar 1 ml de caldo *letheen* y realizar la siembra en la placa (esto corresponde a la dilución a  $10^{-1}$  y sembrar en la placa Petrifilm™).
6. Luego, tomar 1 ml de caldo *letheen* y diluirlo en un tubo de ensayo que contiene 9 ml de agua peptonada (esto corresponde para la dilución a  $10^{-2}$ ) y sembrar en la placa. Para la dilución de  $10^{-3}$ , de la dilución anterior, coger 1 ml de la dilución y colocarlo en un tercer tubo.
7. Colocar las placas en la incubadora. Esperar el tiempo de acuerdo al tipo de microorganismo.

### 3.5.4.1 Determinación de recuento de *E. coli/coliformes*

Con mayor detalle, Ver Anexo 11, para la determinación de recuento de *E. Coli/coliformes*, se procedió a realizar lo siguiente: (3M, CLEAN TRACE. La Solución para el Monitoreo de Higiene , 2011)

**Gráfico 6.** Pasos para el recuento de *E. coli/coliformes*



**Fuente:** Guía de interpretación Petrifilm™ para placas para recuento de *coliformes*, 3M. Disponible en: <http://multimedia.3m.com>

1. Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana. Levantar el film superior. Con una pipeta colocada de forma perpendicular a la placa Petrifilm, colocar 1 ml. de la muestra en el centro del film inferior.
2. Bajar el film superior con cuidado evitando introducir burbujas de aire. No dejarlo caer.
3. Con la cara lisa hacia abajo, colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo. Con cuidado, ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. No

girar ni deslizar el aplicador. Levantar el aplicador. Esperar al menos un minuto a que solidifique el gel.

4. Incubar las placas con la cara hacia arriba, en pilas de hasta 20 placas. El tiempo e incubación varía según el método.
5. Proceder a la lectura de la placa. Pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento iluminada.

#### **3.5.4.2 Determinación de recuento de *aerobios totales***

Para la determinación de recuento de *aerobios totales*, se procedió a realizar lo siguiente: (3M, 2004)

1. Coloque la Placa Petrifilm™ en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.
2. Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm™, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.
3. Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.
4. Con el lado rugoso hacia abajo, coloque el dispersor o esparcidor sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.
5. Presione suavemente el dispersor o esparcidor para distribuir la muestra sobre el área circular. No gire ni deslice el dispersor. Recuerde distribuir la muestra antes de inocular una siguiente placa.
6. Levante el dispersor o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.
7. Incube las placas cara arriba en grupos de no más de 20 piezas. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

8. Proceder a la lectura de la placa. Pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento iluminada.

### 3.5.5 Pruebas por bioluminiscencia

Para la realización de las pruebas luminométricas se procedió deslizar el hisopo 3M CLEAN –TRACE™ SURFACE ATP en la superficie a muestrear. Luego de esto, se colocó el hisopo dentro del luminómetro, el cual nos proporcionó resultados rápidos, los cuales se pueden observar en la Figura 7. Hisopos utilizados en pruebas luminométricas.

**Gráfico 7.** Hisopos empleados en las pruebas luminométricas.



**Fuente:** Elaborado por la autora

## Procedimiento para la realización del método del hisopo

**Gráfico 8.** Pasos para el método del hisopo.



**Fuente:** Brochure CLEAN-TRACE, 3M. Disponible en:  
<http://multimedia.3m.com/mws/media/748278O/3m-clean-trace-higiene-monitoring-system.pdf>

1. Deslizar el hisopo estéril en una superficie de aproximadamente 20 cmx20 cm. Se recomienda hacer el frotis en una dirección y repetir de nuevo en la otra dirección opuesta mientras se va girando el hisopo.
2. Para activar el hisopo, apretar firmemente hacia abajo desde la parte superior del mango hasta que llegue al nivel de la parte superior del tubo. Mezclar los contenidos de la cubeta sujetando la parte superior del dispositivo, en su parte azul, entre el dedo pulgar y el índice.
3. Agitar de manera rápida de lado a lado durante por lo menos cinco segundos.
4. Abrir la cámara de la muestra en el luminómetro presionando sobre el área sombreada e introducir el hisopo.
5. Cerrar la tapa de la cámara e iniciar la lectura. (3M, CLEAN TRACE. La Solución para el Monitoreo de Higiene , 2011)

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Luminometría

Luego de realizada las pruebas luminométricas en cada una de las superficies se obtuvo los siguientes resultados:

#### 4.1.1 Luminometría previa a la limpieza

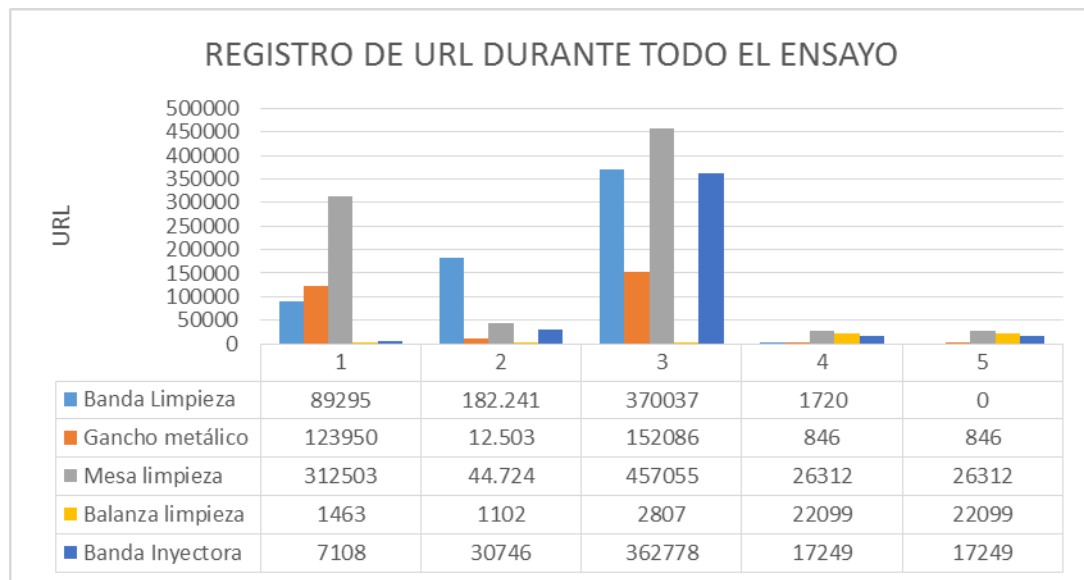
Ésta fue realizada en cada una de las superficies estudiadas, donde se tuvo especial cuidado en cada uno de los puntos de muestreo. Se debe considerar para la realización del muestreo, apegarse al procedimiento descrito en el manual del luminómetro 3M Clean Trace, finalmente se obtuvo:

**Tabla 7.** Resultados obtenidos de las superficies analizadas por luminometría antes de la limpieza operacional.

#	SUPERFICIES	R1	R2	R3	R4	R5
1.	Banda Limpieza	89295	182241	370037	1720	17.20
2.	Gancho metálico	123950	12503	152086	846	846
3.	Mesa limpieza	312503	44724	457055	26312	26312
4.	Balanza limpieza	1463	1102	2807	22099	22099
5.	Banda Inyectora	7108	30746	362778	17249	17249
<b>RANGOS REFERENCIALES</b>						
Aceptación $M \leq 500$		Alerta $501 \leq M \leq 999$			Rechazo $M \geq 1000$	

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Cabe destacar que en lo anteriormente mostrado, si se considera que se tiene un total de 25 muestras (5 superficies x 5 repeticiones), solamente 2 de ellas no se encuentran en el rango de rechazo o 8% de ellas, con lo que se observa una mayoría muestral que no cumple con los parámetros de limpieza.



**Fuente:** Elaborado por la Autora

#### 4.1.2 Luminometría post operacional

Éste análisis se realizó inmediatamente luego de cumplidas las labores de limpieza y desinfección por parte del personal operativo; luego de la cual se realizó una inspección visual de las superficies de manera que se verifique si la limpieza fue debidamente realizada, caso contrario se repite el procedimiento.



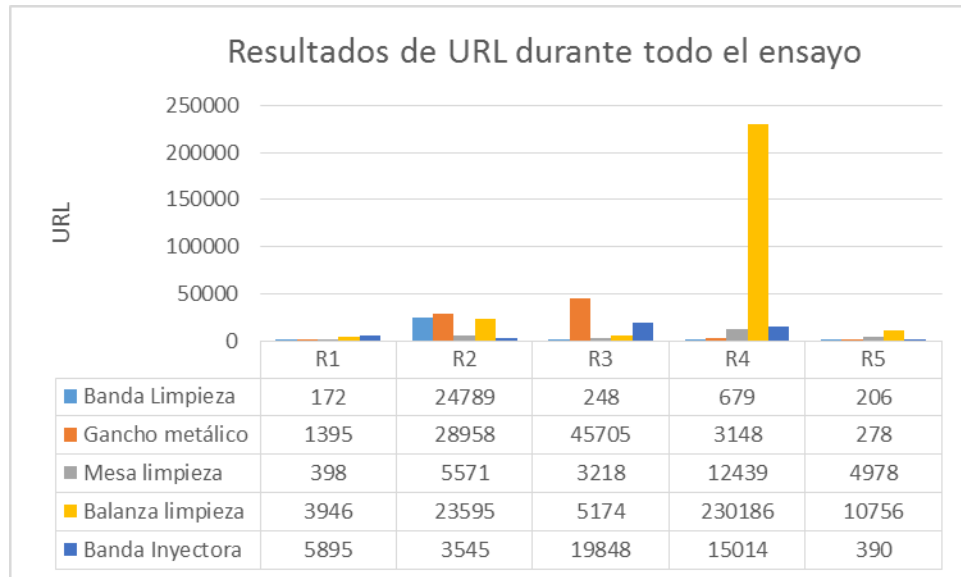
Una vez cumplido el análisis luminométrico se obtuvo:

**Tabla 8.** Resultados obtenidos de las superficies analizadas por luminometría después de la limpieza.

#	SUPERFICIES	R1	R2	R3	R4	R5
1.	Banda Limpieza	172	24789	248	679	206
2.	Gancho metálico	1395	28958	45705	3148	278
3.	Mesa limpieza	398	5571	3218	12439	4978
4.	Balanza limpieza	3946	23595	5174	230186	10756
5.	Banda Inyectora	5895	3545	19848	15014	390
<b>RANGOS REFERENCIALES</b>						
Aceptación $M \leq 500$		Alerta $501 \leq M \leq 999$			Rechazo $M \geq 1000$	

**Fuente:** Elaborado de la Autora

Resulta necesario indicar que luego de realizada la limpieza, se esperaba una considerable mejoría en el porcentaje de muestras que cumplen con el rango de aceptación, sin embargo los resultados muestran que apenas el 24% de las muestras (6 superficies) cumplieron con el rango de aceptación, mientras que el 72% seguía aun dentro del rango de rechazo, por otro lado el 4% restante estaba en el rango de alerta.



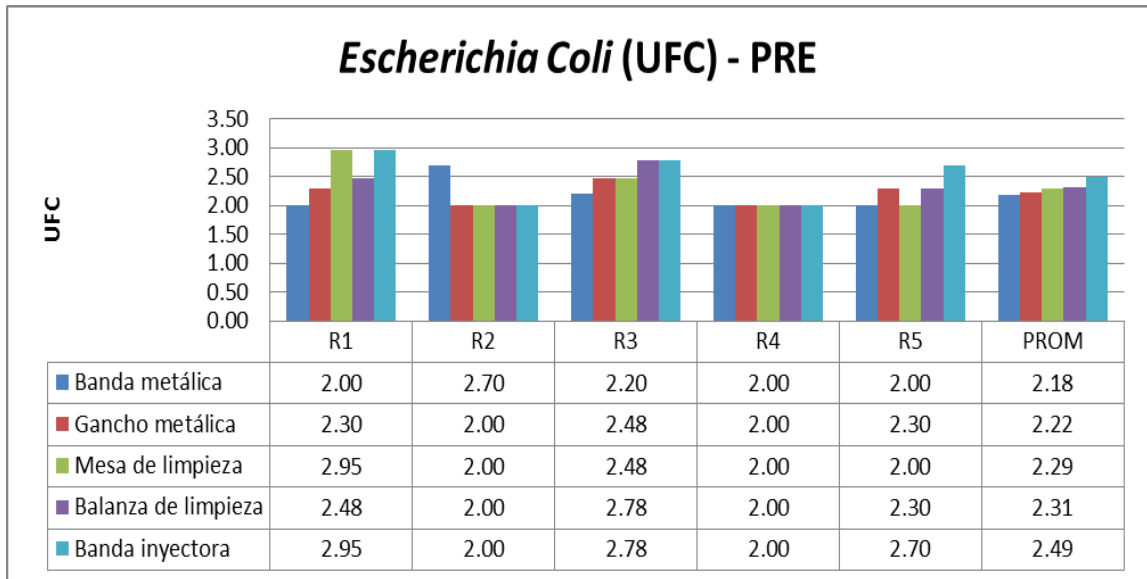
## 4.2 Microbiológico (Petrifilm™)

Los valores obtenidos luego del análisis microbiológico arrojaron resultados cuyo procesamiento requirió el uso de una conversión logarítmica, la cual permitiría corregir un posible aumento de la varianza producto de la naturaleza no lineal de los datos (Ver Anexo 16).

### 4.2.1 *Escherichia coli*

Concluido el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) en los distintos momentos de muestreo (PRE y POST) se obtuvo lo siguiente:

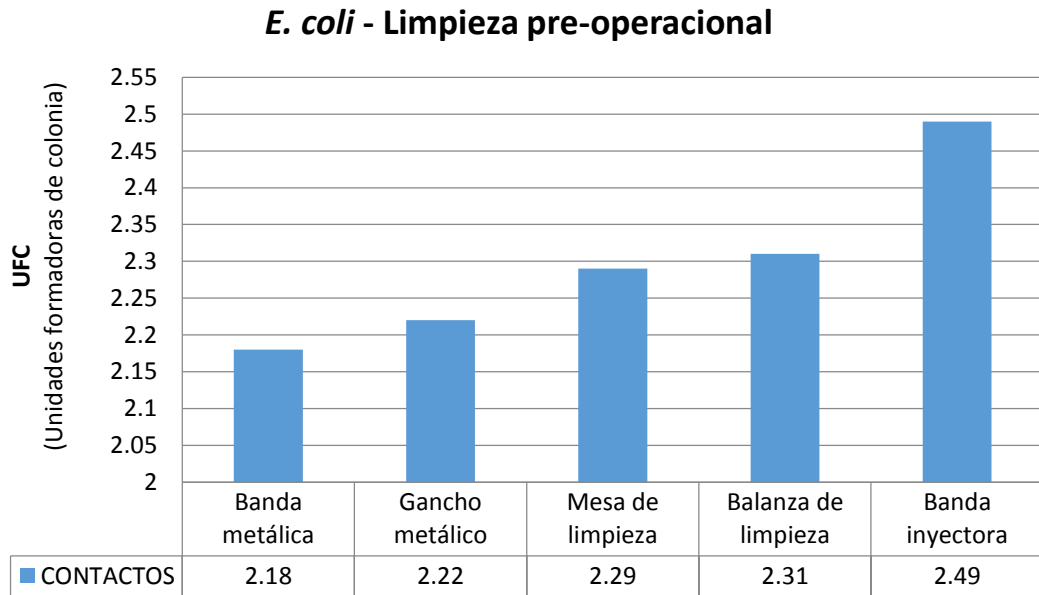
**Tabla 9.** Resultados de *Escherichia coli* obtenidos en la limpieza pre-operacional.



**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se observa en la tabla anterior cómo existe presencia de *E. coli* dentro de las superficies muestreadas en cada una de las muestras obtenidas durante las 5 repeticiones. Gráficamente se puede comparar la contaminación en las superficies de la siguiente manera:

**Gráfico 9.** Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza pre-operacional (*E. coli*).



**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se tiene entonces que la superficie de mayor contaminación, según las medias obtenidas fue la banda inyectora. Es necesario entonces revisar los resultados obtenidos luego de la limpieza, donde podemos apreciar:

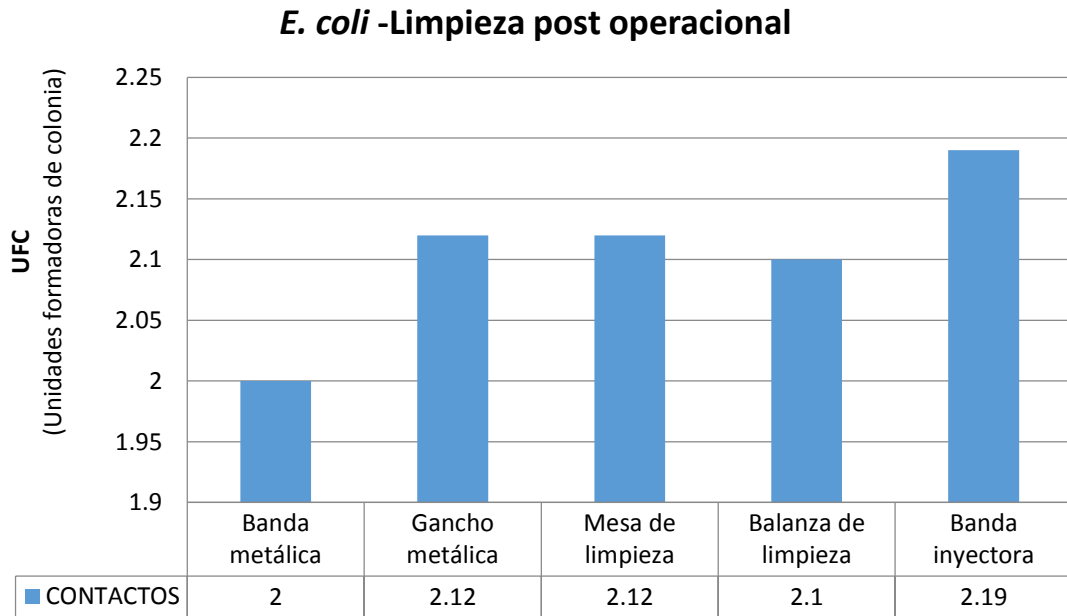
**Tabla 10.** Resultados de *Escherichia coli* obtenidos en la limpieza post-operacional.

<b>ESCHERICHIA COLI (UFC) – POST</b>						
<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>PROM</b>
Banda metálica	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
Gancho metálica	2.30	2.00	2.30	2.00	2.00	2.12
Mesa de limpieza	2.60	2.00	2.00	2.00	2.00	2.12
Balanza de limpieza	2.48	2.00	2.00	2.00	2.00	2.10
Banda inyectora	2.95	2.00	2.00	2.00	2.00	<b>2.19</b>

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se puede apreciar en la tabla la incidencia de contaminación luego de la limpieza, lo que gráficamente entre superficies se puede comparar de la siguiente manera:

**Gráfico 10.** Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza post- operacional (*E. coli*).



**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se puede apreciar nuevamente como existe aún incidencia de contaminación, mayoritaria en la banda inyectora, aun así es necesario el análisis de varianza de las distintas superficies muestreadas para arrojar un resultado confiable, para lo cual se tiene:

**Tabla 11.** Análisis de varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> A <sub>j</sub>	CV
UFC	50	0.18	0.00	14.08%

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se puede observar cómo el CV (Coeficiente de varianza) arroja un valor de 14.08%.

**Tabla 12.** Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<b>F.V</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	0.83	9	0.09	0.96	0.4861
Momento de limpieza	0.45	1	0.45	4.73	0.0356
Superficie	0.32	4	0.08	0.84	0.5082
Momento de limpieza*Superf.	0.05	4	0.01	0.14	0.9667
<b>Error</b>	<b>3.84</b>	<b>40</b>	<b>0.10</b>		
<b>Total</b>	<b>4.67</b>	<b>49</b>			

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se muestra en la Tabla 13, los resultados de 10 tratamientos en estudio (limpieza pre- operacional y limpieza post- operacional), el diseño factorial donde se puede observar una media factorial de 2.20.

**Tabla 13.** Resultado y medias por tratamiento- *Escherichia coli*

#TRAT	A	B	I	II	III	IV	V	$\Sigma t$	PROM
1	A1	B1	2	2.7	2.2	2	2	10.9	2.18
2	A1	B2	2.3	2	2.48	2	2.3	11.08	2.216
3	A1	B3	2.95	2	2.48	2	2	11.43	2.286
4	A1	B4	2.48	2	2.78	2	2.3	11.56	2.312
5	A1	B5	2.95	2	2.78	2	2.7	12.43	2.486
6	A2	B1	2	2	2	2	2	10	2
7	A2	B2	2.3	2	2.3	2	2	10.6	2.12
8	A2	B3	2.6	2	2	2	2	10.6	2.12
9	A2	B4	2.48	2	2	2	2	10.48	2.096
10	A2	B5	2.95	2	2	2	2	10.95	2.19
<b>TOTAL:</b>								<b>2.20</b>	

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Según lo obtenido en las medias se evidencia que el nivel A2 denota una clara disminución en UFC, lo que sugiere que es a causa del método de limpieza empleado. Por otro lado, se observa que la superficie B5 (banda inyectora) presenta una mayor contaminación por UFC de *Escherichia coli*, por lo que puede indicar que existe una contaminación por una indebida limpieza y desinfección de manos antes de realizar las actividades dentro a planta.



**Tabla 14.** Resultado de las medias por cada factor –*Escherichia coli*

	B1	B2	B3	B4	B5	ΣA
A1	2.18	2.22	2.29	2.31	2.49	2.30
A2	2.00	2.12	2.12	2.10	2.19	2.11
ΣB	2.09	2.168	2.203	2.204	2.338	2.20

Fuente: Elaborado por la Autora

#### 4.2.2 Coliformes totales

Concluido el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) en los distintos momentos de muestreo (PRE y POST) se obtuvo lo siguiente:

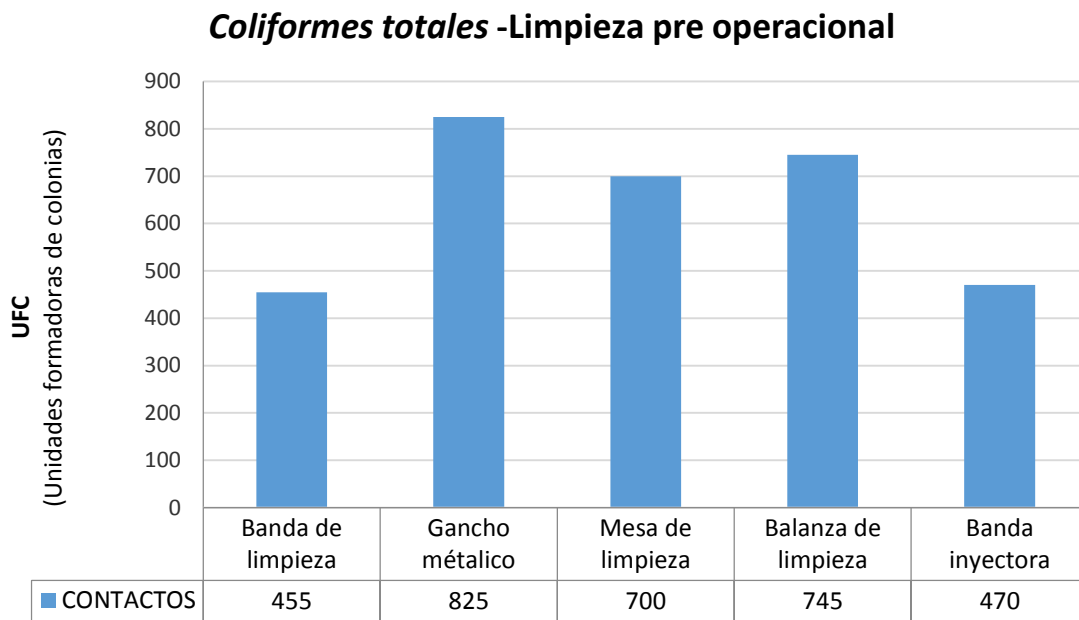
**Tabla 15.** Resultados de *Coliformes totales* obtenidos en la limpieza pre-operacional.

COLIFORMES TOTALES (UFC)-PRE						
SUPERFICIE	R1	R2	R3	R4	R5	PROM
Banda de limpieza	100	230	380	100	100	455
Gancho metálico	300	150	700	100	400	825
Mesa de limpieza	100	400	600	200	100	700
Balanza de limpieza	100	150	900	100	240	745
Banda inyectora	100	300	200	200	140	470

Fuente: Elaborado por la Autora

Se observa en la tabla anterior cómo existe presencia de *Coliformes totales* dentro de las superficies muestreadas en cada una de las muestras obtenidas durante las 5 repeticiones. Gráficamente se puede comparar la contaminación en las superficies de la siguiente manera:

**Gráfico 11.** Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza pre- operacional (*coliformes totales*).



**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se tiene entonces que la superficie de mayor contaminación, según las medias obtenidas fue el gancho metálico. Es necesario entonces revisar los resultados obtenidos luego de la limpieza, donde podemos apreciar:

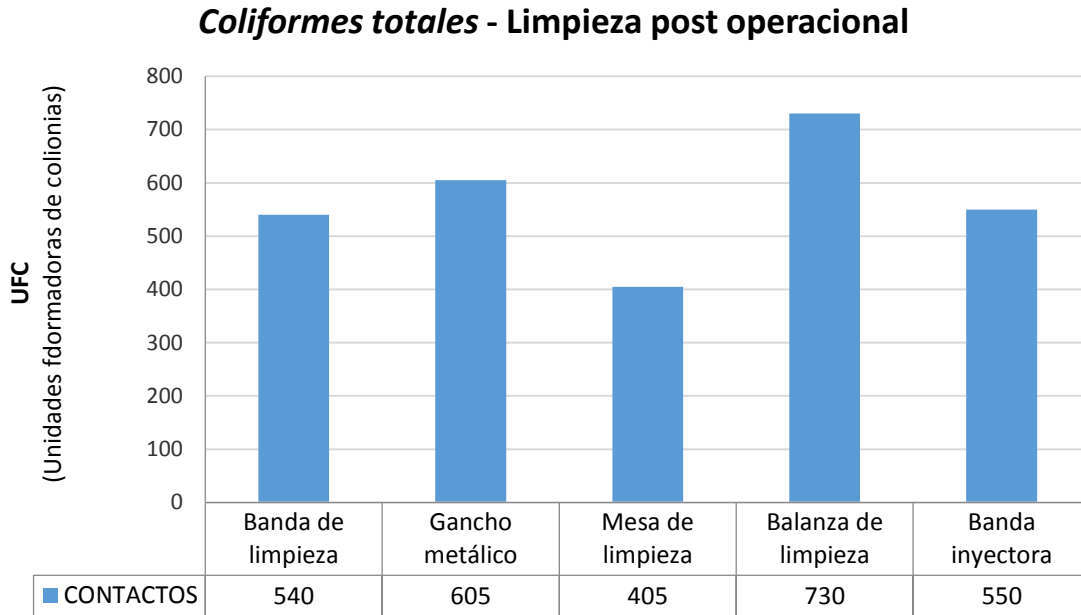
**Tabla 16.** Resultados de *Coliformes totales* obtenidos en la limpieza post-operacional.

<b>COLIFORMES TOTALES (UFC)-POST</b>						
<b>SUPERFICIE</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>PROMEDIO</b>
Banda de limpieza	400	100	300	100	180	540
Gancho metálico	200	100	110	500	300	605
Mesa de limpieza	300	200	110	100	100	405
Balanza de limpieza	200	660	100	400	100	<b>730</b>
Banda inyectora	700	100	100	100	100	550

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se puede apreciar en la tabla la incidencia de contaminación luego de la limpieza, lo que gráficamente entre superficies se puede comparar de la siguiente manera:

**Gráfico 12.** Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza post-operacional (*coliformes totales*).



**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se puede apreciar nuevamente como existe aún incidencia de contaminación, mayoritaria en la banda inyectora, aun así es necesario el análisis de varianza de las distintas superficies muestreadas para arrojar un resultado confiable, para lo cual se tiene:

**Tabla 17.** Análisis de varianza

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> A <sub>j</sub>	CV
UFC	50	0.07	0.00	13.79%

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se puede observar cómo el CV (Coeficiente de varianza) arroja un valor de 13.79%.

**Tabla 18.** Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

<b>F.V</b>	<b>SC</b>	<b>GI</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	0.32	9	0.04	0.36	0.9484
Momento de limpieza	0.03	1	0.03	0.30	0.5855
Superficie	0.17	4	0.04	0.44	0.7776
Momento de limpieza*Superf.	0.11	4	0.03	0.29	0.8847
<b>Error</b>	<b>3.93</b>	<b>40</b>	<b>0.10</b>		
<b>Total</b>	<b>4.25</b>	<b>49</b>			

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se muestra en la Tabla 19, los resultados de 10 tratamientos en estudio (limpieza pre operacional y limpieza post operacional), el diseño factorial donde se puede observar una media factorial de 241.

**Tabla 19.** Resultado y medias por tratamiento- *Coliformes totales*

#TRAT	A	B	I	II	III	IV	V	$\Sigma t$	PROM
1	A1	B1	100	230	380	100	100	910	182
2	A1	B2	300	150	700	100	400	1650	330
3	A1	B3	100	400	600	200	100	1400	280
4	A1	B4	100	150	900	100	240	1490	298
5	A1	B5	100	300	200	200	140	940	188
6	A2	B1	400	100	300	100	180	1080	216
7	A2	B2	200	100	110	500	300	1210	242
8	A2	B3	300	200	110	100	100	810	162
9	A2	B4	200	660	100	400	100	1460	292
10	A2	B5	700	100	100	100	100	1100	220
<b>TOTAL:</b>								<b>241</b>	

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Según lo obtenido en las medias se evidencia que el nivel A2 denota una clara disminución en UFC, lo que sugiere que es a causa del método de limpieza empleado. Por otro lado, se observa que la superficie B4 (balanza de limpieza) presenta una mayor contaminación por UFC de *Coliformes totales*, por lo que puede indicar que existe una contaminación en equipos y utensilios debido a una limpieza y desinfección inadecuada.

**Tabla 20.** Resultado de las medias por cada factor - *Coliformes totales*

	B1	B2	B3	B4	B5	ΣA
<b>A1</b>	182	330	280	298	188	1278
<b>A2</b>	216	242	162	292	220	1132
<b>ΣB</b>	398	572	442	590	408	2410

**Fuente:** Elaborado por la Autora

#### 4.2.3 *Aeróbios mesófilos*

Concluido el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) en los distintos momentos de muestreo (PRE y POST) se obtuvo lo siguiente:

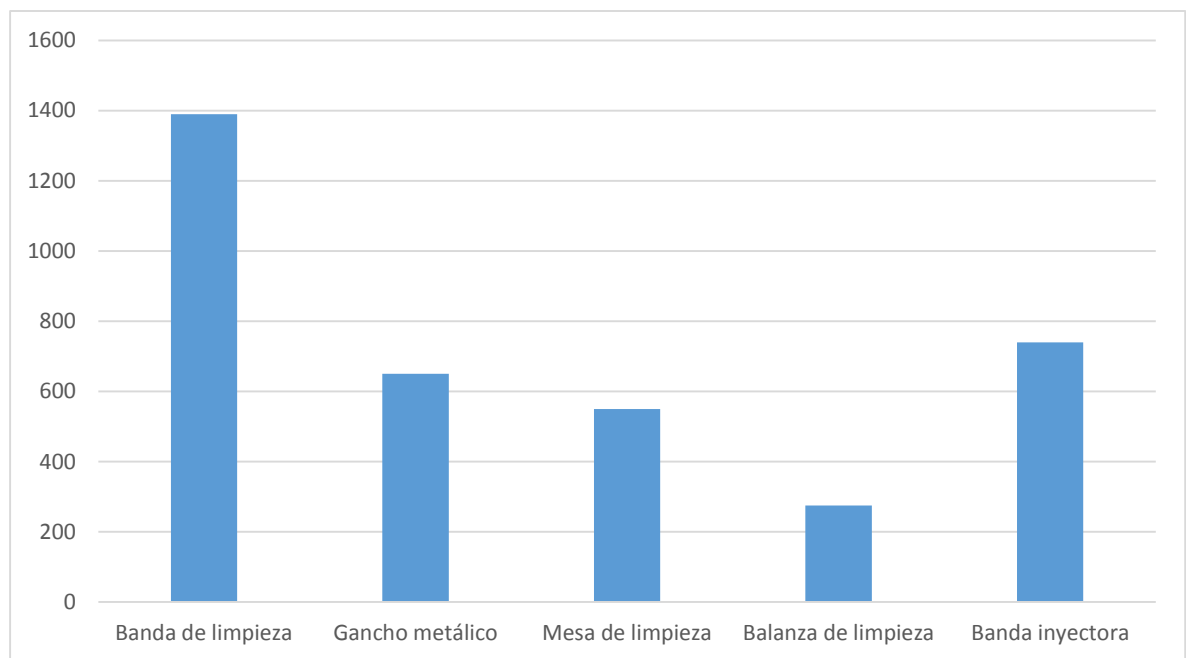
**Tabla 21.** Resultados obtenidos de *aerobios mesófilos* obtenidos en la limpieza pre-operacional.

<b>AEROBIOS MESÓFILOS (UFC)-PRE</b>						
<b>SUPERFICIE</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>	<b>PROM</b>
Banda de limpieza	400	840	100	500	940	<b>1390</b>
Gancho metálico	680	200	220	100	100	650
Mesa de limpieza	140	600	160	100	100	550
Balanza de limpieza	100	100	100	120	130	275
Banda inyectora	100	800	360	120	100	740

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se observa en la tabla anterior cómo existe presencia de *aerobios mesófilos* dentro de las superficies muestreadas en cada una de las muestras obtenidas durante las 5 repeticiones. Gráficamente se puede comparar la contaminación en las superficies de la siguiente manera:

**Gráfico 13.** Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza pre-operacional (*aerobios mesófilos*).



**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se tiene entonces que la superficie de mayor contaminación, según las medias obtenidas fue la banda de limpieza. Es necesario entonces revisar los resultados obtenidos luego de la limpieza, donde podemos apreciar:



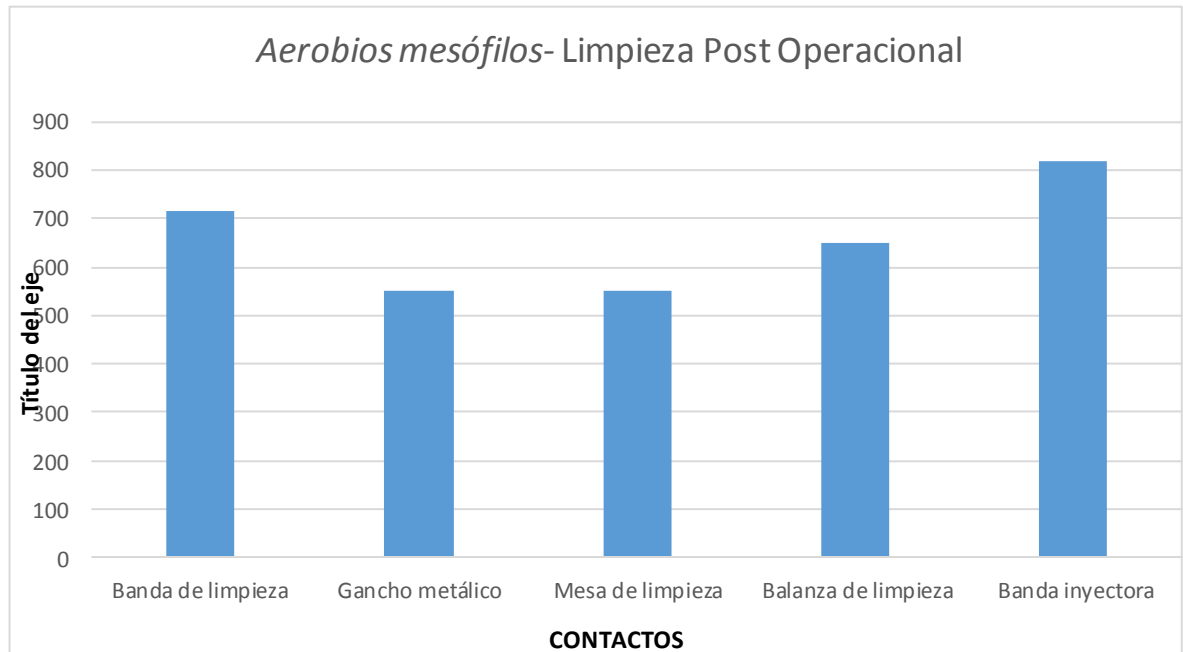
**Tabla 22.** Resultados de *aerobios mesófilos* obtenidos en la limpieza post-operacional.

<b>AEROBIOS MESÓFILOS (UF)-POST</b>						
<b>SUPERFICIE</b>	<b>I</b>	<b>II</b>	<b>III</b>	<b>IV</b>	<b>V</b>	<b>PROM</b>
Banda de limpieza	500	160	330	340	100	715
Gancho metálico	100	100	400	300	200	550
Mesa de limpieza	100	400	200	100	300	550
Balanza de limpieza	100	100	300	100	700	650
Banda inyectora	100	800	140	100	500	820

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se puede apreciar en la tabla la incidencia de contaminación luego de la limpieza, lo que gráficamente entre superficies se puede comparar de la siguiente manera:

**Gráfico 14.** Comparación de medias para contaminación en superficies en limpieza post- operacional (*aerobios mesófilos*).



**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se puede apreciar nuevamente como existe aún incidencia de contaminación, mayoritaria en la banda inyectora, aun así es necesario el análisis de varianza de las distintas superficies muestreadas para arrojar un resultado confiable, para lo cual se tiene:

**Tabla 23. Análisis de varianza**

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> A <sub>j</sub>	CV
UFC	50	0.19	4E-03	14.35%

**Fuente:** La Autora

Se puede observar cómo el CV (Coeficiente de varianza) arroja un valor de 14.35%.

**Tabla 24. Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

<b>F.V</b>	<b>SC</b>	<b>gl</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>p-valor</b>
Modelo	1.01	9	0.11	1.02	0.4374
Momento de limpieza	1.2E-03	1	1.2E-03	0.02	0.9156
Superficie	0.72	4	0.18	1.63	0,1845
Momento de limpieza*Superf.	0.29	4	0.07	0.67	0.6173
<b>Error</b>	4.38	40	0.11		
<b>Total</b>	5.39	49			

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Se muestra en la Tabla 25, los resultados de 10 tratamientos en estudio (limpieza pre operacional y limpieza post operacional), el diseño factorial donde se puede observar una media factorial de 275.6.

**Tabla 25.** Resultado y medias por tratamiento- *Aerobios mesófilos*

#TRAT	A	B	I	II	III	IV	V	$\Sigma t$	PROM
1	A1	B1	400	840	100	500	940	2780	556
2	A1	B2	680	200	220	100	100	1300	260
3	A1	B3	140	600	160	100	100	1100	220
4	A1	B4	100	100	100	120	130	550	110
5	A1	B5	100	800	360	120	100	1480	296
6	A2	B1	500	160	330	340	100	1430	286
7	A2	B2	100	100	400	300	200	1100	220
8	A2	B3	100	400	200	100	300	1100	220
9	A2	B4	100	100	300	100	700	1300	260
10	A2	B5	100	800	140	100	500	1640	328
<b>TOTAL:</b>								<b>275.6</b>	

**Fuente:** Elaborado por la Autora

Según lo obtenido en las medias se evidencia que el nivel A2 denota una clara disminución en UFC, lo que sugiere que es a causa del método de limpieza empleado. Por otro lado, se observa que la superficie B1 (banda metálica) presenta una mayor contaminación por UFC de *aerobios mesófilos*, por lo que puede indicar que existe una contaminación en equipos y utensilios debido a una limpieza y desinfección inadecuada.

**Tabla 26.** Resultado de las medias por cada factor – *Aerobios mesófilos*

	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>	<b>B4</b>	<b>B5</b>	<b>ΣA</b>
<b>A1</b>	556	260	220	110	296	1442
<b>A2</b>	286	220	220	260	328	1314
<b>ΣB</b>	842	480	440	370	624	2756

**Fuente:** Elaborado por la Autora

## **5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **5.1 Conclusiones**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, donde han intervenido las cinco superficies de contacto, se llega a las siguientes conclusiones:

Las técnicas de recuento rápido como las de Petrifilm permiten una reducción de pasos en el proceso de análisis microbiológico, como la necesidad de preparar, esterilizar y fundir el medio de cultivo donde va a ser sembrada la muestra.

La aplicación del luminómetro CLEAN –TRACE 3M como método de detección de microorganismos en superficies de contacto permitió conocer las condiciones de higiene en forma rápida y segura para mantener el control microbiológico de las mismas.

Los valores de URL, encontrados en las cinco superficies analizadas luego de la limpieza post-operacional, no cumplen en su totalidad los criterios microbiológicos según lo estipulado por la empresa.

Los valores de UFC, encontrados en las cinco superficies analizadas luego de la limpieza cumplen parcialmente los criterios microbiológicos proporcionados por la normativa peruana que actualmente se usa como guía.

## 5.2 Recomendaciones

De acuerdo a los resultados obtenidos en la presente investigación, donde han intervenido las cinco superficies de contacto, se llega a las siguientes recomendaciones:

Se debe seguir utilizando el método Petrifilm™, ya que este tipo de placas permite crecer solo el tipo de microorganismo indicador que se está evaluando, generando una mayor precisión en la obtención de los resultados, sin mencionar la reducción de pasos en la preparación del análisis de la muestra.

La técnica de luminometría permite conocer de manera rápida y eficaz los resultados de las superficies de contacto al ser analizadas, a pesar de que proporciona un valor cuantitativo.

Realizar evaluaciones periódicas sobre el desempeño del POES 2, con el fin de asegurar que se cumplan los criterios microbiológicos por parte del proveedor del equipo, al igual que la normativa peruana tomada como referencia. De ser necesario, definir de manera interna mediante ensayos los criterios microbiológicos para asegurar la inocuidad del producto final.

Como los resultados microbiológicos por Petrifilm™ no cumplen con la norma tomada como referencia, se recomienda revisar y analizar las posibles causas durante el proceso de desposte de reses, al igual que se recomienda la creación de planes de limpieza y desinfección; los cuales deben ser analizados y revisados por lo menos 3 veces al año.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alimentaria, 3. S. (2009). 3M. Obtenido de  
[http://solutions.productos3m.es/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?lmd=1308649701000&locale=es\\_ES&assetType=MMM\\_Image&assetId=1273686631657&blobAttribute=ImageFile](http://solutions.productos3m.es/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?lmd=1308649701000&locale=es_ES&assetType=MMM_Image&assetId=1273686631657&blobAttribute=ImageFile)
- Alimentaria, 3. S. (2009). 3M. Obtenido de  
[http://solutions.productos3m.es/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?lmd=1308649701000&locale=es\\_ES&assetType=MMM\\_Image&assetId=1273686631657&blobAttribute=ImageFile](http://solutions.productos3m.es/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?lmd=1308649701000&locale=es_ES&assetType=MMM_Image&assetId=1273686631657&blobAttribute=ImageFile)
- Alimentarius, C. (2009). *Higiene de los alimentos*. Roma: FAO/OMS.
- Alimentos, I. N. (s.f.). Higiene e Inocuidad de los Alimentos: Procedimientos Operativos Estandarizados de Saenamiento (POES). *Gacetilla correspondiente a El Boletín del Inspector Bromatológico N° 9* , 1-6.
- Álvarez, María Elisa Baelo; Martínez Pastor Felipe ;. (2013). *Manual de Seguridad y buenas prácticas en el laboratorio*. México.
- Care, 3. H. (2015). 3M. Obtenido de  
<http://multimedia.3m.com/mws/media/921114O/3m-clean-trace-ngi-luminometer-user-manual-spanish.pdf>
- Care, 3. H. (2015). 3M. Obtenido de  
<http://multimedia.3m.com/mws/media/921114O/3m-clean-trace-ngi-luminometer-user-manual-spanish.pdf>
- Castiblanco, A. (2008). Verificación comparativa por método de bioluminiscencia y método tradicional de limpieza y desinfección de una industria alimenticia. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana.



- Catalunya, A. d. (2013). Salud y seguridad alimentaria. *Agencia de Salud Pública de Catalunya*, 1-5.
- CHEMICAL CENTER. (13 de 08 de 2013). Obtenido de [http://www.chemicalcenter.com.ar/folletos/Biotrace/Validacion\\_Limpieza\\_Bioluminiscencia.pdf](http://www.chemicalcenter.com.ar/folletos/Biotrace/Validacion_Limpieza_Bioluminiscencia.pdf)
- CHEMICAL CENTER. (2011). Obtenido de [http://www.chemicalcenter.com.ar/folletos/Biotrace/Validacion\\_Limpieza\\_Bioluminiscencia.pdf](http://www.chemicalcenter.com.ar/folletos/Biotrace/Validacion_Limpieza_Bioluminiscencia.pdf)
- Chen, K. (2004). *Manipulación de alimentos*. Costa Rica: Instituto Nacional de Apredizaje.
- Dávila, F., & Díaz, N. (2014). Calidad de higiene en salas de cirugía por luminometría de adenosín trifosfato. *Revista Gerencia y Políticas de Salud*, vol. 13, núm. 27, 3-9.
- Económica, A. (Enero de 2014). Asociación de Ganaderos de Santo Domingo, Ecuador.
- Ganado Bovino*. (4 de Enero de 2012). Obtenido de <http://bovinosganado.blogspot.com/2012/01/razas-de-bovinos-en-ecuador.html>
- Hurtado, M. G. (2013). MF0546\_1: Higiene general en la industria alimentaria. IC Editorial.
- (INA), I. N. (2007). *Manipulación de alimentos*. Costa Rica.
- J. Silva, L. R. (2004). Determinación de microorganismos indicadores de calidad sanitaria. Coliformes totales, coliformes fecales y aerobios mesófilos en agua potable envasada y distribuida en San Diego, estado Carabobo, Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 1-4.
- Loayza, S. (2011). CONTROL DE CALIDAD DE LA CARNE DE BOVINO EN EL MERCADO MUNICIPAL DE LA CIUDAD DE PIÑAS PROVINCIA DEL ORO. Loja: Universidad Nacional de Loja.

- M. Pierson, L. S. (2001). *Indicator Microorganisms and Microbiological In: Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers*. 2nd ed. USA: ASM Press.
- Medina, F. (2011). *CRIFOOD*. Obtenido de [http://www.alimentosecuador.com/descargas/bt523dcb09ba209\\_BPM\\_Crifood.pdf](http://www.alimentosecuador.com/descargas/bt523dcb09ba209_BPM_Crifood.pdf)
- Mestanza, J. C., & Velasco, B. (20 de 05 de 2015). *elcomercio.com*. Obtenido de <http://www.elcomercio.com/actualidad/costa-produccion-carnederos-ganado-consumo.html>
- Oficial, E. P. (2007). *Guía técnica para el análisis microbiológico de Superficies en contacto con alimentos y bebidas*. Lima.
- Pino, M., & Solis, C. (2013). *Seguridad e Higiene y Protección Ambiental en Hostelería*. H0TR0508. Málaga: IC Editorial.
- PRODUCCIÓN DE CARNE Y CLASIFICACIÓN DE CANALES (PRIMERA PARTE). (s.f.). *AGRYTEC.COM*.
- Productividad, M. d. (2014). *Buenas prácticas de manufactura*. Obtenido <http://www.proecuador.gob.ec/wpcontent/uploads/2015/02/BPM-ProEcuador.pdf>
- Quintela, D. A., & Paroli, I. (2013 ). *Guía práctica para la aplicación de los Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES)*. SECCIÓN INSPECCIÓN Y TECNOLOGÍA ALIMENTARIA DEL SERVICIO DE REGULACIÓN ALIMENTARIA, 10,11.
- Rivera. (2003). *Programas soporte del sistema HACCP*. *Alimentaria*, 35 37.
- Rodríguez, C. (2011). *Importancia de los Indicadores como índice de Calidad en los alimentos*. *3M Solutions*, 3.

- ROMÁN, D. M. (2007). BUENAS PRACTICAS DE MANUFACTURA  
Planes de higiene y sistema de análisis de peligros de puntos críticos de control para la pequeña y mediana empresa quesera. Argentina: INTI LACTEOS.
- (SAE), D. d. (2014). *PROEcuador*. Obtenido de <http://www.proecuador.gob.ec/wp-content/uploads/2013/05/GuiaHACCP.pdf>
- Seafood HACCP Alliance course Sea Grant, F. (2000). Sanitation Control Procedures for Processing Fish and Fishery Products. *NATIONAL SEAFOOD HACCP ALLIANCE*.
- Service, U. F. (26 de 03 de 2014). *Food Safety and Inspection Service*. Obtenido de [http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/4cafe6fe-e1a3-4fcf-95ab-bd4846d0a968/13a\\_IM\\_SSOP.pdf?MOD=AJPERES](http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/4cafe6fe-e1a3-4fcf-95ab-bd4846d0a968/13a_IM_SSOP.pdf?MOD=AJPERES)
- STEVENSON, K. B. (2010). HACCP un Enfoque Sistemático hacia la seguridad de los alimentos. Manual para el desarrollo e implementación de un plan de análisis de peligros y puntos críticos de control. . EEUU: The Food Processors Institute.
- 3M Solutions. (2011). Obtenido de [http://solutions.productos3m.es/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?locale=en\\_WW&Imd=1307530120000&assetId=1273685360597&assetType=MMM\\_Image&blobAttribute=ImageFile](http://solutions.productos3m.es/3MContentRetrievalAPI/BlobServlet?locale=en_WW&Imd=1307530120000&assetId=1273685360597&assetType=MMM_Image&blobAttribute=ImageFile)
- 3M. (2004). Obtenido de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PetrifilmAerobiccount\\_19100.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/PetrifilmAerobiccount_19100.pdf)
- 3M. (2011). CLEAN TRACE. La Solución para el Monitoreo de Higiene . Providencia-Santiago: División Médica.
- 3M. (2012). Guía de Monitoreo de higiene por Bioluminiscencia. Chile.

3M. (2014). 3M. Obtenido de

[http://solutions.productos3m.es/wps/portal/3M/es\\_ES/FoodSafetyEU/FoodSafety/ProductInformation/ProductCatalogue/?PC\\_Z7\\_RJH9U5230ODK40IMRSPA7P2O65000000\\_nid=J5W756N61Vbe8SD7TQV1GLgl](http://solutions.productos3m.es/wps/portal/3M/es_ES/FoodSafetyEU/FoodSafety/ProductInformation/ProductCatalogue/?PC_Z7_RJH9U5230ODK40IMRSPA7P2O65000000_nid=J5W756N61Vbe8SD7TQV1GLgl)

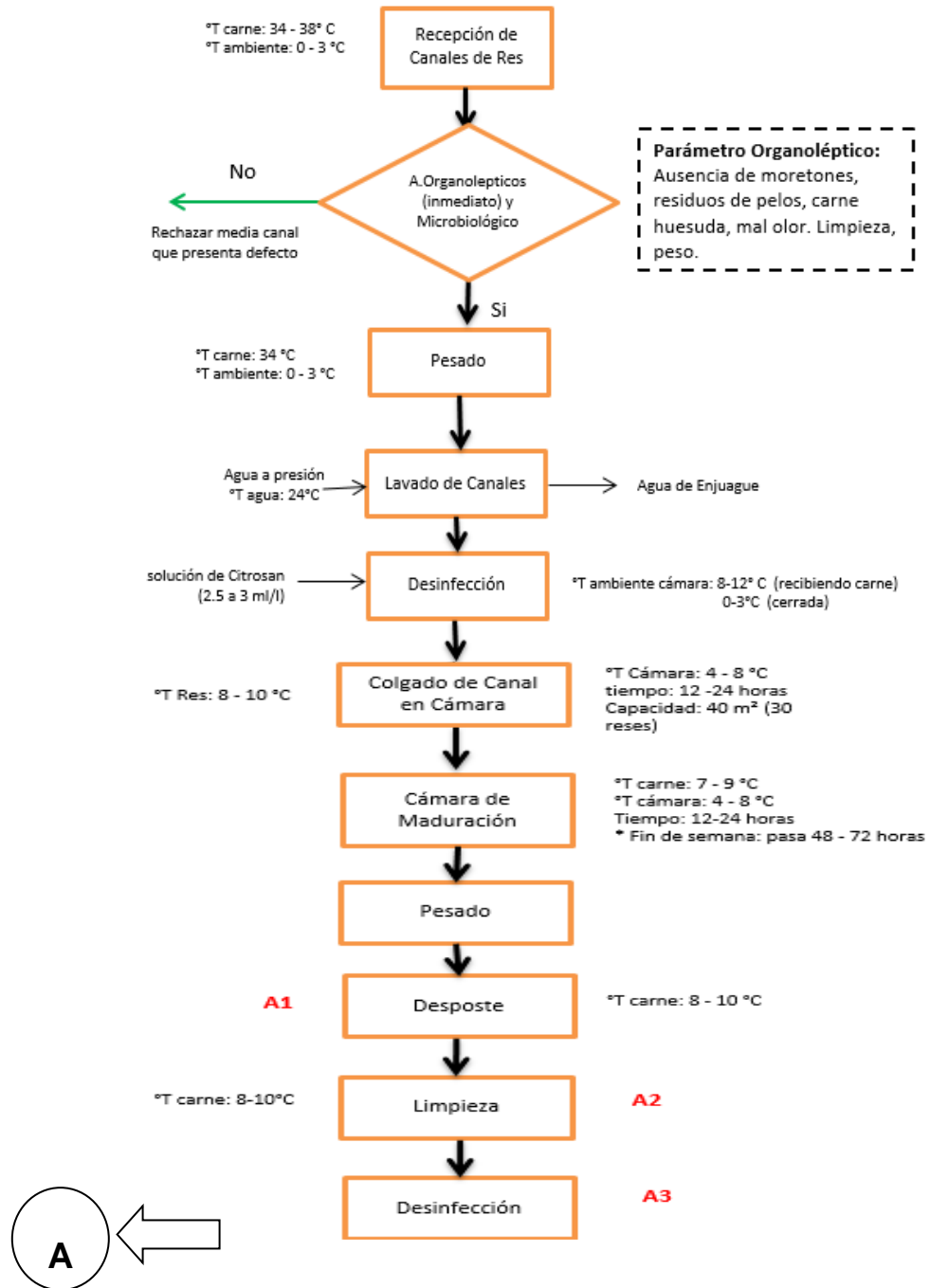
# **ANEXOS**

### Anexo 1. Cronograma de actividades

Actividades / Semana		Octubre			Noviembre				Diciembre				Enero				Febrero	
		2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2
1	Realizar anteproyecto																	
2	Elección del tema																	
3	Consulta de material bibliográfico																	
4	Estructura del tema																	
5	Preparación de materiales a emplear en la toma de muestras																	
6	Toma y análisis de muestras																	
7	Procesamiento de Datos																	
8	Elaboración del informe técnico - tesis																	
9	Redacción de Informe																	
10	Conclusiones y entrega final																	

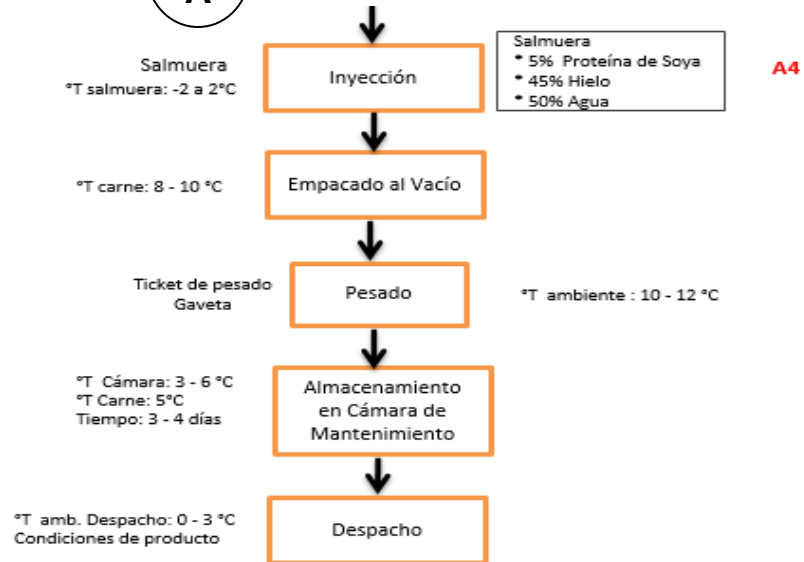
Fuente: La Autora

**Anexo 2.** Diagrama de flujo de la empresa de desposte de reses.



Continúa

A



Fuente: Empresa de Desposte de Reses, 2015



**Anexo 3.** Hisopos CLEAN-TRACE empleados en el plan de muestreo.



**Fuente:** Elaborado por la Autora

**Anexo 4.** Luminómetro CLEAN – TRACE™ NG



**Fuente:** Elaborado por la Autora

**Anexo 5.** Material utilizado durante el ensayo.



**Fuente:** Elaborado por la Autora

**Anexo 6.** Banda de desposte analizada.



**Fuente:** Elaborado por la Autora

**Anexo 7. Mesa y balanza de limpieza analizada**



**Fuente:** Elaborado por la Autora

**Anexo 8. Método del hisopo en banda de inyectora.**



**Fuente:** Elaborado por la Autora



**Anexo 9.** Medios de cultivo empleados durante el trabajo experimental.



**Fuente:** Elaborado por la Autora

**Anexo 10.** Tesista realizando siembra de medios de cultivo



**Fuente:** Elaborado por la Autora



**Fuente:** Elaborado por la Autora

**Anexo 11. Determinación de recuento de E. Coli/Coliformes.**



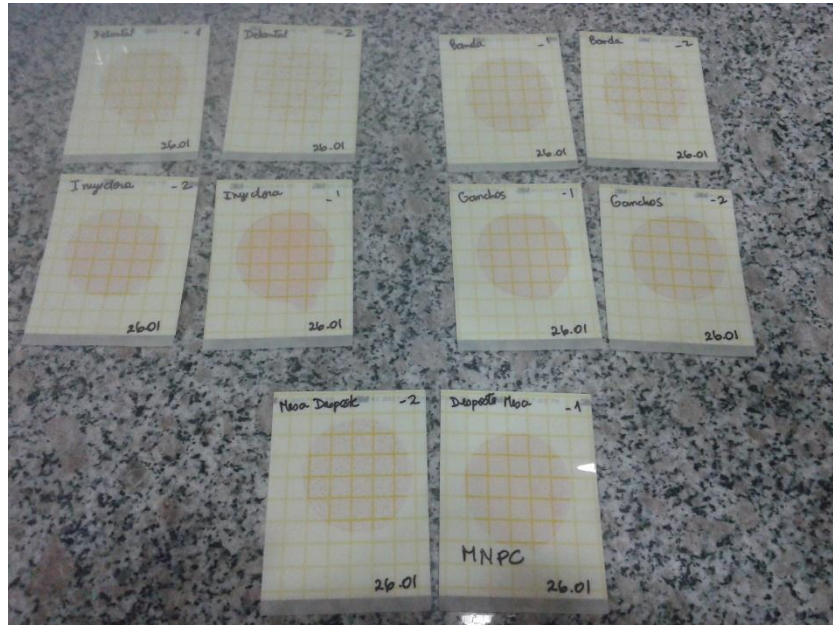
**Fuente:** Elaborado por la Autora



**Fuente:** Elaborado por la Autora



## Anexo 12. Determinación de recuento de E. Coli



**Fuente:** Elaborado por la Autora

## Anexo 13. Guía de Aplicación Placa Petrifilm<sup>MR</sup> para recuento total de aerobios.

**3M**

### Placa Petrifilm<sup>MR</sup> para Recuento Total de Aerobios Cat. 6400, 6406



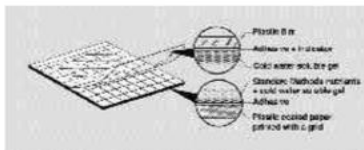
#### Hoja Técnica

#### Descripción

La placa Petrifilm<sup>MR</sup> para Recuento Total de Aerobios es un sistema de medio de cultivo listo para ser usado, que contiene los nutrientes del Agar Standard Method, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador que facilita la enumeración de las colonias.

#### Construcción (Composición)

La placa Petrifilm<sup>MR</sup> para Recuento Total de Aerobios está compuesta por una lámina de papel con una cuadrícula impresa recubierta de polipropileno conteniendo nutrientes del medio para métodos estándar y un agente gelificante soluble en agua fría. Se complementa en la parte superior con otra lámina de polipropileno que contiene gel soluble en agua fría y tricloruro de trifeníl tetrazolio (ó TTC) como indicador de acuerdo al siguiente diagrama:



#### Usos (Aplicaciones)

Las placas Petrifilm<sup>MR</sup> para Recuento Total de Aerobios pueden ser usadas para la enumeración de organismos aerobios en alimentos diversos así como para el monitoreo ambiental y superficial en áreas de procesamiento y manipuladores.

#### Instrucciones de Uso

- 1.-Preparar al menos una dilución de la muestra utilizando uno de los siguientes diluyentes estériles: agua de peptona al 0,1% , Buffer de agua peptona método ISO 6579), Solución salina ( 0,85 - 0,90 % ), tampón Butterfield, diluyente de sal peptonada (método ISO 6887), caldo Lethen libre de bisulfato o agua destilada. (No utilice buffer que contengan citrato, bisulfito o Tiosulfato de sodio) el pH de la muestra debe estar al 6,5 - 7,5, si es necesario ajustarlo para muestras ácidas con NaOH1N y alcalinas con HCl1N )
- 2.-Coloque la placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior. Con la pipeta perpendicular a la placa Petrifilm coloque 1 ml de la muestra (previamente preparada con su correspondiente dilución).
- 3.-Libere la película superior.
- 4.-Con el lado bordeado hacia abajo coloque el dispersor sobre la película superior atrapando la muestra.
- 5.-Presione suavemente el dispersor para distribuir la muestra sobre el área circular.
- 6.-Levante el dispersor, espere un minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.
- 7.-Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura.
- 8.-Tiempo de incubación y temperatura varían según el método. Los métodos comúnmente aprobados son:  
AOAC Método Oficial 986.33 (leche y productos lácteos)  
Incubar 48 hrs (+/- 3 hrs ) a 32°C (+/- 1°C)  
AOAC Método Oficial 990.12  
Incubar a 48 hrs (+/- 3 hrs ) a 32°C (+/- 1°C)  
Afnor método válido 3M 01/1-09/89  
Incubar 72 hrs (+/- 3hrs) a 30°C  
Método MNKL 146.1993  
Incubar a 72 hrs (+/- 3 hrs ) a 30 °C
- 9.-Retirar las placas una vez cumplido su tiempo de incubación y proceder al recuento de colonias
- 10.-Para el conteo se puede utilizar en contador de colonias standar u otro tipo de lupa con luz.

**Fuente:** Guía de aplicación placa Petrifilm<sup>MR</sup> para recuento total de aerobios,



3M

## Anexo 14. Guía de uso de CLEAN-TRACE 3M.

### Cómo funciona el sistema.

El Sistema de Verificación de Limpieza Clean-Trace™ de 3M™ utiliza la bioluminiscencia del adenosín trifosfato (ATP) para medir la presencia de materia orgánica sobre una superficie. El material orgánico contiene ATP, que emite luz cuando se combina con reactivos de la Prueba de Superficie ATP Clean-Trace™ de 3M™. Esta luz es invisible al ojo humano y se mide con facilidad por medio del Luminómetro Ngi Clean-Trace™ de 3M™. El Luminómetro Clean-Trace brinda un resultado en unidades relativas de luz (URL), que se puede comparar con valores predeterminados en URL de aceptación/rechazo que usted haya establecido.



### Tan fácil como el 1, 2, 3.



Recolecte la muestra con el hisopo.



Haga clic/Agite.



Mida.

### Resultados precisos y confiables en tiempo real.

Cuando se enciende el Luminómetro Clean-Trace por primera vez, este realiza una calibración automática y una comprobación de fondo para asegurar que esté funcionando correctamente.

Cuando la comprobación está completa, el instrumento automáticamente pasa al Menú principal, donde el usuario selecciona una de las dos opciones de modalidad de medida.

En el transcurso de los 30 segundos de colocar el hisopo dentro de la cámara, aparecerá una medida del nivel de limpieza expresada en unidades relativas de luz (URL).



**Fuente:** Guía de administración de higiene, 3M.

**Anexo 15.** Resultado de las muestras analizadas por bioluminiscencia (URL).

DESCRIPCIÓN	ÁREA	R1	R2	R3	R4	R5
Banda Limpieza	A1	89295	182241	370037	1720	1720
	A2	172	24789	248	679	206
Gancho metálico	A1	123950	12503	152086	846	846
	A2	1395	28958	45705	3148	278
Mesa limpieza 1	A1	312503	44724	457055	26312	26312
	A2	398	5571	3218	12439	4978
Balanza limpieza 1	A1	1463	1102	2807	22099	22099
	A2	3946	23595	5174	230186	10756
Banda Inyectora	A1	7108	30746	362778	17249	17249
	A2	5895	3545	19848	15014	390

**Fuente:** Elaborado por la Autora

**Anexo 15.** Resultado de las muestras analizadas por Petrifilm (UFC).

<i>ESCHERICHIA COLI</i> (UFC)						
DESCRIPCIÓN	ÁREA	R1	R2	R3	R4	R5
Banda Limpieza	A1	100	5x10(1)	1.6x10(2)	<10	<10
	A2	100	>1x10(1)	<10	<10	<10
Gancho metálico	A1	200	<10	3x10(1)	<10	2x10(1)
	A2	200	>1x10(1)	2x10(1)	<10	<10
Mesa limpieza	A1	900	<10	3x10(1)	<10	<10
	A2	40	>1x10(1)	<10	<10	<10
Balanza limpieza	A1	30	<10	6x10(1)	1x10(1)	2x10(1)
	A2	30	>1x10(1)	<10	<10	<10
Banda Inyectora	A1	90	<10	6x10(1)	1x10(3)	5x10(1)
	A2	90	>1x10(1)	<10	<10	<10

**Fuente:** Elaborado por la Autora

<b>AEROBIOS MESÓFILOS (UFC)</b>						
<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>ÁREA</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>
Banda Limpieza	A1	4x10(4)	8.4x10(5)	MNPC X10(-3)	5x10(5)	9.4x10(-4)
	A2	5x10(4)	1.6x10(4)	3.3x10(4)	3.4x10(5)	1x10(5)
Gancho metálico	A1	6.8X10(1)	2x10(5)	2.2x10(5)	1x10(4)	1.0x10(-5)
	A2	MNPC X10(-2)	MNPC 10(-2)	4x10(5)	3x10(3)	2x10(5)
Mesa limpieza	A1	1.4x10(4)	6x10(3)	1.6x10(6)	1x10(4)	MNPC X10(-3)
	A2	MNPC X10(-2)	4x10(4)	2x10(5)	1x10(3)	3x10(4)
Balanza limpieza	A1	MNPC X10(-3)	MNPC X10(-3)	MNPC X10(-3)	1.2x10(6)	1.3X10(5)
	A2	MNPC X10(-2)	1x10(4)	3x10(3)	1x10(5)	7x10(4)
Banda Inyectora	A1	MNPC X10(-3)	8x10(4)	3.6x10(5)	1.2x10(6)	MNPC X10(-3)
	A2	MNPC X10(-2)	8x10(4)	1.4x10(4)	1x10(3)	5x10(4)

**Fuente:** Elaborado por la Autora

<b>COLIFORMES TOTALES (UFC)</b>						
<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>ÁREA</b>	<b>R1</b>	<b>R2</b>	<b>R3</b>	<b>R4</b>	<b>R5</b>
Banda Limpieza	A1	>1x10(1)	2.3x10(2)	3.8x10(2)	<10	1x10(-1)
	A2	4x10(1)	>1x10(1)	3x10(1)	1x10(1)	1.8x10(-2)
Gancho metálico	A1	3x10(1)	1.5x10(2)	7x10(1)	<10	4x10(-1)
	A2	2x10(2)	>1x10(1)	1.1x10(2)	5x10(1)	3x10(-2)
Mesa limpieza	A1	>1x10(1)	4x10(1)	6x10(1)	2x10(4)	1x10(-1)
	A2	3x10(1)	2x10(1)	1.1x10(2)	1x10(1)	<10
Balanza limpieza	A1	>1x10(1)	1.5x10(2)	9x10(1)	<10	2.4x10(-2)
	A2	2x10(2)	6.6x10(-3)	<10	4x10(1)	<10
Banda Inyectora	A1	>1x10(1)	3x10(1)	2.0x10(2)	2x10(3)	1.4x10(-3)
	A2	7x10(1)	>1x10(1)	<10	<10	<10

**Fuente:** Elaborado por la Autora

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Rodríguez Jacho Stefanie Fernanda, con C.C: # 0918955329 autora del trabajo de titulación: **Elaboración de pruebas microbiológicas y luminométricas para validar la aplicación de los procedimientos operacionales estandarizados de saenamiento (POES) – condiciones y superficies de contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses** previo a la obtención del título de **INGENIERA AGROINDUSTRIAL CON CONCENTRACIÓN EN AGRONEGOCIOS** en la Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las instituciones de educación superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de titulación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la SENESCYT a tener una copia del referido trabajo de titulación, con el propósito de generar un repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Guayaquil, 16 de marzo de 2016

f. \_\_\_\_\_  
Nombre: Rodríguez Jacho Stefanie Fernanda  
C.C: 0918955329

## REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

### FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE TITULACIÓN

<b>TÍTULO Y SUBTÍTULO:</b>	Elaboración de pruebas microbiológicas y luminométricas para validar la aplicación de los procedimientos operacionales estandarizados de saneamiento (POES) – condiciones y superficies de contacto (POES 2) en el proceso de desposte de reses.		
<b>AUTOR(ES)</b> (apellidos/nombres):	Rodríguez Jacho, Stefanie Fernanda		
<b>REVISOR(ES)/TUTOR(ES)</b> (apellidos/nombres):	Ing. Chero Alvarado, Victor Egbert M.Sc.		
<b>INSTITUCIÓN:</b>	Universidad Católica de Santiago de Guayaquil		
<b>FACULTAD:</b>	Facultad de Educación Técnica Para el Desarrollo		
<b>CARRERA:</b>	Ingeniería Agroindustrial		
<b>TÍTULO OBTENIDO:</b>	Ingeniera Agroindustrial con concentración en Agronegocios		
<b>FECHA DE PUBLICACIÓN:</b>	16 de marzo de 2016	<b>No. DE PÁGINAS:</b>	101
<b>ÁREAS TEMÁTICAS:</b>	Seguridad y calidad alimentaria		
<b>PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:</b>	LUMINOMETRÍA, VALIDAR, POES, BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILOS, ESCHERICHIA COLI, COLIFORMES TOTALES.		
<b>RESUMEN/ABSTRACT</b> (150-250 palabras):			
<p>El propósito de este trabajo experimental es validar la influencia de la aplicación de los procedimientos sanitarios estandarizados de trabajo (PNT) - Condiciones y superficies de contacto (POES 2) para determinar si se hace correctamente el proceso de limpieza y desinfección en un deshuesado empresa de ganado por microbiológica petrifilm de prueba para determinar las bacterias aerobias mesófilas, Escherichia coli, coliformes totales; prueba de bioluminiscencia usando Además luminómetro, donde los criterios de aceptación y rechazo de alerta establecidos para detectar superficies muestreadas carga orgánica.</p> <p>Las superficies de contacto analizados durante el trabajo experimental estaban limpiando la banda, ganchos de metal, tablas, escalas y limpieza de banda de 2limpieza de inyector; ya que son fuentes potenciales de contaminación cruzada.</p> <p>Para determinar la influencia de la aplicación de los procedimientos operativos estándar de saneamiento (SOP) - Condiciones y superficies de contacto (POES 2) el diseño es completamente al azar, dispuestos en un experimento factorial 2x5 con 5 observaciones.</p>			
<b>ADJUNTO PDF:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
<b>CONTACTO CON AUTOR/ES:</b>	<b>Teléfono:</b> +593-4-3853876 / 0982442566	E-mail: <a href="mailto:stefanie.rodriguez@cu.ucsg.edu.ec">stefanie.rodriguez@cu.ucsg.edu.ec</a> / <a href="mailto:faniarodriguez_9987@yahoo.com">faniarodriguez_9987@yahoo.com</a>	
<b>CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:</b>	<b>Nombre:</b> Ing. Donoso Bruque Manuel Enrique		
	<b>Teléfono:</b> 0991070554		
	<b>E-mail:</b> <a href="mailto:manuel.donoso@cu.ucsg.edu.ec">manuel.donoso@cu.ucsg.edu.ec</a>		

### SECCIÓN PARA USO DE BIBLIOTECA

<b>Nº. DE REGISTRO (en base a datos):</b>	
<b>Nº. DE CLASIFICACIÓN:</b>	
<b>DIRECCIÓN URL (tesis en la web):</b>	