



**Díaz Chiesa, María Cecilia**  
**Locaso, María Belén**

***Desarrollo e implementación de un plan de monitoreo ambiental de microorganismos indicadores y patógenos en el sector despostada de un frigorífico exportador de carne bovina***

***Trabajo Integrador Final. Licenciatura en Seguridad Alimentaria***

***Facultad de Ciencias de la Salud (2024)***

***Universidad Católica de Santa Fe.***

*La Biblioteca posee la autorización del autor para su publicación en línea*



# **TRABAJO DE INTEGRACIÓN FINAL**

**Desarrollo e implementación de un plan de monitoreo ambiental de microorganismos indicadores y patógenos en el sector despostada de un frigorífico exportador de carne bovina**

**Alumnas:** Díaz Chiesa, María Cecilia

Locaso, María Belén

**Directora:** Dra. Alfaro, María Gabriela

**Co-Directora:** Ing. Coppes, Guadalupe

**Fecha de entrega:** Junio 2024



## ÍNDICE

ÍNDICE .....	2
RESUMEN.....	9
1. INTRODUCCIÓN .....	10
2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	13
2.1- Legislación .....	13
2.2- Contaminación de la carne.....	15
2.3-Microorganismos de la carne .....	16
2.3.1-Microorganismos indicadores .....	16
2.3.2-Microorganismo patógenos.....	17
2.3.3-Biofilms en superficies .....	19
3. OBJETIVOS.....	20
3.1-Objetivo general .....	20
3.2-Objetivos específicos .....	20
4. METODOLOGÍA .....	21
4.1- Beneficios de un PMA .....	21
4.2- Implementación de un PMA .....	21
4.3-Tipo de estudio.....	23
5. POBLACIÓN OBJETIVO O PARTICIPANTE .....	24
5.1-Universo de estudio .....	24
5.2-Unidad de análisis/muestreo .....	24
5.3-Criterios de inclusión y exclusión.....	24
5.4-Variables y operacionalización .....	32
6. PLANIFICACIÓN DE LAS PRÁCTICAS Y ETAPAS Y PASOS SEGUIDOS EN LA EJECUCIÓN DEL TRABAJO .....	33
6.1-Frecuencia de muestreo y número de muestras.....	33
6.2-Orden de la toma de muestras .....	36
6.3.1-Método del hisopo: .....	37
6.3.2-Método de la esponja:.....	38



6.4-Análisis microbiológico de las muestras .....	40
6.4.1- Procedimiento de análisis microbiológico con aplicación del método del hisopo:.	41
6.4.2- Procedimientos de análisis microbiológico con aplicación del método de la esponja:.....	44
6.5-Plan de análisis de datos .....	49
6.6-Límites microbiológicos .....	50
6.7-Gráficos de control .....	51
7. RESULTADOS OBTENIDOS.....	52
8. DISCUSIÓN.....	83
9. CONCLUSIONES .....	85
10. BIBLIOGRAFÍA.....	89
11. ANEXOS.....	91



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros microbiológicos establecidos para cada superficie .....	31
Tabla 2. Frecuencias de muestreo sugeridas según el riesgo de contaminación .....	34
Tabla 3. Superficies elegidas con las frecuencias sugeridas.....	35
Tabla 4. Resultados de los análisis realizados en las superficies correspondientes a la ZONA 1.....	52
Tabla 5. Resultados de los análisis realizados en las superficies correspondientes a la ZONA 2.....	58
Tabla 6. Resultados de los análisis realizados en las superficies correspondientes a la ZONA 3.....	63
Tabla 7. Resultados de los análisis realizados en las superficies correspondientes a la ZONA 4.....	66
Tabla 8. Porcentaje de datos atípicos en cada zona.....	80
Tabla 9. Dispersión de los datos con respecto a la media en los análisis microbiológicos de recuento de Mesófilos Aerobios en UFC/cm <sup>2</sup> .....	81
Tabla 10. Dispersión de los datos con respecto a la media en los análisis microbiológicos de recuento de Enterobacterias en UFC/cm <sup>2</sup> .....	81
Tabla 11. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis microbiológicos de recuento de Mesófilos Aerobios en UFC/cm <sup>2</sup> .....	82
Tabla 12. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis microbiológicos de recuento de Enterobacterias en UFC/cm <sup>2</sup> .....	82
Tabla 13. Programa de Monitoreo Ambiental propuesto para cada zona.....	86



## **ÍNDICE DE ILUSTRACIONES**

Ilustración 1. Flujograma del sector de despostada de planta frigorífica.....	26
Ilustración 2. Plano del sector de despostada de planta frigorífica .....	27
Ilustración 3. División del Programa de Monitoreo Ambiental en zonas (zonificación) .....	36
Ilustración 4. Técnica de hisopado de superficies. ....	38
Ilustración 5. Técnica de esponjado de superficies .....	39
Ilustración 6. Técnica de siembra por dilución.....	43
Ilustración 7. Técnica para el recuento de <i>Enterobacteriaceae</i> (EB) por placas petrifilm de 3M .....	44
Ilustración 8. Flujo de trabajo del equipo de PCR en tiempo real (GENE-UP) .....	48



## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1. Gráfico de secuencia temporal correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm <sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 1.....	67
Gráfica 2. Gráfico de resultados correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm <sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 1.....	68
Gráfica 3. Comparación de las medias en UFC/cm <sup>2</sup> de los análisis microbiológicos correspondientes a las superficies de la ZONA 1.....	69
Gráfica 4. Distribución porcentual para <i>Salmonella</i> spp y STEC correspondientes a las superficies de la ZONA 1.....	69
Gráfica 5. Gráfico de secuencia temporal correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm <sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 2.....	70
Gráfica 6. Gráfico de resultados correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm <sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 2.....	71
Gráfica 7. Comparación de las medias en UFC/cm <sup>2</sup> de los análisis microbiológicos correspondientes a las superficies de la ZONA 2.....	72
Gráfica 8. Distribución porcentual para <i>Salmonella</i> spp y STEC correspondientes a las superficies de la ZONA 2.....	72
Gráfica 9. Gráfico de secuencia temporal correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm <sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 3.....	73
Gráfica 10. Gráfico de resultados correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm <sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 3.....	74
Gráfica 11. Comparación de las medias en UFC/cm <sup>2</sup> de los análisis microbiológicos correspondientes a las superficies de la ZONA 3.....	75
Gráfica 12. Distribución porcentual para <i>Salmonella</i> spp y STEC correspondientes a las superficies de la ZONA 3.....	76
Gráfica 13. Gráfico de secuencia temporal correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm <sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 4.....	77
Gráfica 14. Gráfico de resultados correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm <sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 4.....	78
Gráfica 15. Comparación de las medias en UFC/cm <sup>2</sup> de los análisis microbiológicos correspondientes a las superficies de la ZONA 4.....	79
Gráfica 16. Distribución porcentual para <i>Salmonella</i> spp y STEC correspondientes a las superficies de la ZONA 4.....	79



**ÍNDICE DE CUADROS**

Cuadro 1. Métodos de análisis microbiológicos normalizados..... 40





## **ÍNDICE DE ANEXOS**

Anexo 1. Decisión 2001/471/CE de la Comisión de las Comunidades Europeas que establecen normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos antes del sacrificio. ....	91
Anexo 2. Cálculo del tamaño de la muestra .....	91
Anexo 3. Cálculo de los resultados obtenidos por el método de hisopo. ....	92
Anexo 4. Cálculo de los Límites inferiores (LI) y Límites superiores (LS) de cada Zona utilizando el diagrama de caja y bigote. ....	93



## **RESUMEN**

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) son ocasionadas por el consumo de alimentos contaminados con microorganismos y son consideradas actualmente un problema de salud pública. El objetivo general de este estudio fue realizar un diagnóstico inicial y crear la base de información sobre la carga microbiana a la que están expuestos los cortes de carne bovina a nivel ambiental en la zona de desposte de un frigorífico ubicado en la zona del litoral argentino, para luego desarrollar y proponer un Programa de Monitoreo Ambiental con la finalidad de detectar puntos de contaminación tan pronto como sea posible y poder controlarlos iniciando acciones correctivas apropiadas eliminando o reduciendo el peligro potencial y asegurando la seguridad del producto.

Mediante una inspección exhaustiva de las instalaciones de la planta se identificaron las áreas de acuerdo a los requerimientos de higiene y al tipo de contacto con el alimento, posteriormente se establecieron los puntos de muestreo (496 muestras de 73 superficies) considerados críticos según la zonificación para asegurar la inocuidad de los alimentos. Se analizaron durante un periodo de 4 meses, 352 muestras para detectar la presencia o no de microorganismos indicadores (mesófilos aerobios y enterobacterias) y 144 muestras para la búsqueda de patógenos (*Salmonella* spp y STEC), siendo utilizado diferentes métodos: recuento estándar en placa para mesófilos aerobios, placas petrifilm de 3M para el recuento de *Enterobacteriaceae* (EB), PCR en tiempo real como método de control de patógenos, hisopados y esponjados. Por último, mediante estadística descriptiva se analizaron los datos obtenidos del plan de muestreo microbiológico establecido con el fin de entender el comportamiento de los microorganismos dentro del entorno de producción.

De acuerdo con los resultados obtenidos se logró desarrollar una línea de base para que la empresa pueda implementar un Programa de Monitoreo Ambiental (PMA) en el sector despostada exigido por la Norma BRC V 9.



## 1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la definición de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) la seguridad alimentaria existe cuando todas las personas tienen, en todo momento, acceso físico y económico a suficientes alimentos inocuos y nutritivos para satisfacer sus necesidades alimenticias y poder llevar así una vida activa y sana. (Gonzalo Aleu et al., 2018, p. 9)

Los sistemas de inocuidad en la industria alimentaria están conformados por diferentes componentes que tienen como objetivo el procesamiento y comercialización de alimentos inocuos y seguros para su consumo, para evitar la aparición de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), las cuales plantean problemas económicos y de salud pública cada vez mayores.

Las industrias alimentarias y sus reguladores están poniendo más énfasis en los programas de monitoreo ambiental, que tiene como objetivo identificar los riesgos potenciales en las áreas de producción y en el producto abierto, para ser gestionados adecuadamente y evitar una contaminación del producto, generando cambios en los enfoques normativos de la inocuidad alimentaria.

La salud de los consumidores puede verse comprometida a raíz de productos primarios excesivamente contaminados con microorganismos o toxinas. Por lo tanto, es esencial entender cómo se introducen los patógenos durante la producción primaria. Se estima que un microorganismo presente en el ambiente de producción tiene una probabilidad de entre 70-80% de terminar en el alimento.

La carne además de ser altamente susceptible al deterioro, es una matriz rica en nutrientes convirtiéndose en un vehículo para la proliferación de diversos microorganismos, dentro de los cuales podemos nombrar *E. coli* O157:H7, *E. coli* no-O157 productoras de toxina Shiga (STEC), *Salmonella* spp.

Durante el sacrificio y procesamiento, todos los tejidos potencialmente comestibles pueden estar sujetos a contaminación por diversas fuentes, ya sea interna o externa al animal. En animales vivos, las superficies en contacto con el medio ambiente albergan una variedad de microorganismos, por lo que en muchas ocasiones los contaminantes se derivan de la piel del animal, o bien, de aquellos presentes en heces. Sin embargo, se ha determinado que las carnes procesadas son más susceptibles a contaminarse con microorganismos patógenos durante las diferentes etapas de su procesamiento. La presencia de patógenos en la cadena de producción de un alimento, aún en bajos números, es indeseable y se considera como la mayor causa de enfermedades gastrointestinales alrededor del mundo (Norma Heredia et al., 2014, p.2).



La importancia de determinar la presencia y lograr un control adecuado de estos patógenos en los alimentos, radica en poder tener la capacidad de minimizar o eliminar cualquier riesgo para la salud del consumidor.

En las noticias de inocuidad alimentaria del mundo, queda claro que los incidentes más dañinos están relacionados con la contaminación por microorganismos patógenos. Según el resumen cuatrimestral de notificaciones del Sistema de Alertas Rápidas de la UE (RASFF) durante el 1er cuatrimestre del 2023 se registraron un total de 1286 alertas y notificaciones alimentarias, de las cuales el 24% corresponden a contaminación biológica. Las Salmonellas son las causantes del 60% de estas, siendo la *Salmonella* spp la principal protagonista. Dentro de estas alertas 5 corresponden a alimentos provenientes de carne vacuna (3 de Países Bajos, 1 de Namibia, 1 de Polonia). En tanto las alertas y notificaciones por *E. coli* en vacuno son 4 (1 de Argentina, 1 de Países Bajos, 1 de Nueva Zelanda, 1 de Bélgica).

Cada año, en todo el mundo, los alimentos contaminados provocan aproximadamente unos 600 millones de casos de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) y unas 420.000 muertes.

En las últimas décadas se ha evidenciado que los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se han producido debido a la contaminación del alimento a partir del entorno en la planta de elaboración y se detectó al ambiente como fuente primaria de patógenos. Es por ello que los avances en la implementación de sistemas de gestión de inocuidad, la legislación creciente sobre criterios microbiológicos y las exigencias de las legislaciones internacionales para el comercio exterior, requieren la aplicación de planes y controles preventivos para la inocuidad. A su vez todas las normativas reconocidas por la Iniciativa Global de Seguridad Alimentaria (GFSI) incluyen en sus requisitos la necesidad de implementar programas de control ambiental. Es por esto que nos planteamos el desarrollo e implementación de un Programa de Monitoreo Ambiental (PMA) de una planta frigorífica, específicamente en el sector de despostada de cortes de carne bovina donde el volumen de producción diario alcanza un promedio de 1300 cuartos (70.000 Kg), siendo esta una de las principales empresas del rubro cárnico de la región del litoral. La planta se encuentra oficialmente habilitada por SENASA para los principales destinos comerciales del mundo: Angola, Arabia Saudita, Aruba, Brasil, Canadá, Chile, China, Colombia, Costa de Marfil, Curacao, Dubái, EE. UU, Puerto Rico, Eslovenia, Escocia, Gabón, Gales, Hong Kong, Inglaterra, Israel, Kuwait, Marruecos, Panamá, Paraguay, Patagonia, Perú, Reino Unido, Rusia, Singapur, Sudáfrica, Tailandia, UE, Uruguay, Uzbekistán, Vietnam, entre otros. Cuenta con un programa de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES), Bienestar Animal entre otros y posee certificaciones bajo Normas ISO



9001, ISO 14001, ISO 45001 y BRCGS en sus versiones vigentes.



## 2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

Muchas enfermedades del hombre están asociadas al consumo de alimentos de origen animal, causadas por microorganismos patógenos pertenecientes a la flora intestinal de animales sanos, como así también por otros patógenos de distinta procedencia.

En los tejidos de los animales sanos, los microorganismos presentan inicialmente bajos niveles de proliferación, pero se multiplican si el manejo del alimento es incorrecto en los procesos de elaboración, distribución y preparación.

La presencia de enfermedades originadas por alimentos (ETA) depende por lo tanto de las medidas de control en todos los puntos de la cadena, desde el animal vivo hasta su consumo. Para asegurar la inocuidad de la carne se han puesto en práctica diversos programas.

Este trabajo está dirigido a realizar un diagnóstico y crear la base de información sobre la existencia de microorganismos indicadores y patógenos (los más importantes en productos cárnicos crudos: *Salmonella* spp y STEC – *Escherichia coli* productora de toxina Shiga-) capaces de contaminar la carne bovina de dicho frigorífico exportador para elaborar e implementar un Plan de Monitoreo Ambiental (PMA).

Este plan es de suma importancia para prevenir la aparición de patógenos e identificar los puntos de posibles contaminaciones permitiendo evaluar la efectividad de las medidas de control para peligros microbianos (indicadores, patógenos y organismos de deterioro), cumplir con las exigencias de las reglamentaciones que tienen que ver con salud pública nacional e internacional, además de ser una herramienta fundamental para fortalecer y mantener un sistema de seguridad alimentaria sólido.

### **2.1- Legislación**

Los avances en la aplicación de los sistemas de gestión de la inocuidad (POES, BPM, BPH, HACCP) y la legislación, cada vez más creciente, sobre criterios microbiológicos de alimentos, intensificaron la vigilancia del estado sanitario del ambiente en las áreas de proceso.

La Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF) reconoce que la aplicación de un plan HACCP, no es garantía de que no pueda ocurrir una recontaminación dentro del entorno de procesamiento. El mecanismo más eficaz para controlar el riesgo de un microorganismo en el entorno de producción, es la implementación de un Programa de Monitoreo Ambiental (PMA).

Como describe 3M/Cornell University, el Programa de Monitoreo Ambiental está definido para supervisar el ambiente de una planta de fabricación de alimentos para prevenir la



contaminación cruzada de producto terminado con el ambiente. El término PMA se suele utilizar para describir un programa que verifica la limpieza, la desinfección y otros programas de control de patógenos ambientales. Normalmente un PMA incluye los puntos de muestreo, la frecuencia, la metodología de prueba, los criterios de aceptación y las acciones correctivas. En términos más generales, los programas de monitoreo ambiental suelen abarcar una serie de pruebas desde el adenosín fosfato (ATP), microorganismos indicadores hasta los patógenos, microorganismos deterioradores y alérgenos, y pueden servir para validar o verificar programas de prerrequisitos específicos (por ejemplo, saneamiento y diseño sanitario de equipos) o pueden considerarse mayormente como una estrategia para monitorear el medio ambiente en busca de condiciones antihigiénicas que puedan causar problemas de inocuidad y/o calidad de los alimentos. Este programa es requisito de normas BRCS Food Safety V9, IFS Food V7, FSSC 22000 V6 y de requisitos legales.

La Ley de Modernización de Inocuidad Alimentaria (FSMA) de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, Food and Drug Administration) de los Estados Unidos, estableció un nuevo sistema de control de los alimentos elevando la importancia de los programas de prerrequisitos (incluyen un requisito para la verificación de los controles preventivos). Estos controles preventivos de saneamiento contemplan el monitoreo ambiental y la zonificación de las áreas de producción, envasado, almacenamiento, entre otros.

La Iniciativa Mundial de Seguridad Alimentaria (GFSI) incluye el programa de monitoreo ambiental en su documento de Requisitos de evaluación comparativa (PARTE III: Requisitos para el contenido de las normas, Sección 2: Requisitos de los sistemas de gestión de la seguridad alimentaria). Por lo tanto los estándares reconocidos por GFSI como BRCS v9, IFS Food v7, SQF v9 y FSSC 22000 v6 entre otros, han incorporado entre sus requisitos la obligatoriedad de implementar un plan de monitoreo ambiental para las empresas que deseen certificarse o renovar su certificado.

Según Channaiah et al. (2016, p.158) el diseño e implementación de un PMA es diferente para cada una de las plantas de procesamiento (por ejemplo, productos vegetales o animales, alimentos húmedos o secos, etc.), es decir que no existe un PMA universal que pueda utilizarse eficazmente en todas las plantas de procesamiento de alimentos. Un PMA eficaz es específico de cada planta y de las operaciones individuales dentro de ella. Para que el PMA sea efectivo se requiere aplicar un enfoque sistemático bajo metodologías de gestión y aplicando herramientas de análisis y muestreo y tomando decisiones para la mejora de los ambientes de proceso.

El frigorífico donde realizaremos este trabajo tiene implementado un sistema de gestión de



inocuidad alimentaria y está adherido a normas voluntarias. Para poder mantener la certificación de estas normas, la empresa debe implementar programas de monitoreo ambiental basados en el riesgo para microorganismos indicadores y patógenos. Deberá incluir evaluación de riesgo específico de la instalación, determinación de zonas de muestreo, definición de microorganismos a monitorear, cantidad de muestras a ser recolectadas, frecuencia del muestreo, lugar y momento de toma de muestras, métodos de muestreo y análisis, evaluación de los resultados, implementar análisis de causa raíz, documentación y seguimiento, acciones correctivas y preventivas. Así como también establecer los límites de control y acciones correctivas que se tomarán cuando los resultados indiquen que no se cumplió con los límites de los microorganismos o cuando se observe una tendencia creciente de resultados positivos.

En la evaluación de riesgos se determina los peligros asociados a la materia prima con la cual se trabaja (en nuestro caso la carne vacuna) para poder determinar los microorganismos que se van a analizar, es decir los organismos indicadores y los patógenos que pueden estar presente en el alimento en un momento dado.

## **2.2- Contaminación de la carne**

El Codex Alimentarius define a la carne como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin”.

Gran parte de la población mundial consume carne, la carne bovina está en tercer lugar ya que es consumida específicamente por el 22% de la población.

Según un estudio realizado por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (F.A.O) se estableció que el consumo de la carne bovina aumentará de manera gradual en los próximos 10 años. Incluso se estipuló que para el 2026 el consumo de carne aumentaría un 6% en los países desarrollados, e incrementaría un 17% en las regiones en desarrollo como América latina, Asia y el Medio Oriente. En la Argentina el consumo se mantuvo en los últimos 10 años entre los 58 kg a 60 kg por habitante/año.

La carne está compuesta por: agua, proteínas, grasas, minerales y vitaminas de alta biodisponibilidad, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. Es fuente de proteínas y aminoácidos esenciales. Debido a su composición, a la alta actividad acuosa y a su pH es que se comporta como un excelente medio de cultivo para ciertos microorganismos que pueden causar deterioro en el alimento o llegar a provocar enfermedades en el consumidor.

La contaminación de la carne comienza en el lugar de faena, continua en el procesamiento de la misma y lugares de venta para terminar en el hogar del consumidor. Los microorganismos patógenos pueden pasar de un alimento a otro por contacto directo o bien





a través de quienes los manipulan, de las superficies de contacto o del aire.

La industria cárnica se encuentra expuesta a la contaminación microbiana durante todo el procesamiento, por lo tanto, el aseguramiento de la calidad debe ser planeado desde el principio y debe monitorearse a lo largo de todo el proceso, realizando un control proactivo anticipándose así a posibles problemas.

El ambiente es considerado una fuente muy importante de microorganismos (patógenos, indicadores o de deterioro) que pueden contaminar o recontaminar la carne, que luego de procesada queda expuesta al ambiente o a superficies antes de su envasado. De esta manera, un parámetro que refleja la carga microbiana global a la que están expuestos los cortes es la contaminación ambiental en el establecimiento, siendo éste un punto crítico en la producción de alimentos de alta calidad y seguros.

## **2.3-Microorganismos de la carne**

### **2.3.1-Microorganismos indicadores**

Los microorganismos indicadores son microorganismos no patógenos que se encuentran naturalmente en el ambiente, y su presencia refleja la condición microbiológica general de un alimento, un equipo o un entorno de producción, aportando información clave para validar y verificar los procesos de limpieza e higienización. Son una importante herramienta en los programas de monitoreo ambiental para controlar las condiciones higiénicas en las plantas de producción y procesamiento de alimentos. Su presencia no necesariamente significa un peligro para el consumidor o una calidad inferior de los productos, ni dan indicio de una posible presencia de un patógeno en particular. Los organismos indicadores que se pueden usar para los programas de monitoreo ambiental incluyen los que se encuentran en las pruebas de recuento total de aerobios, coliformes y enterobacterias.

Monitorear el entorno de la planta de alimentos en busca de organismos indicadores y patógenos dará una alerta temprana, antes de que el producto y los clientes se vean afectados.

#### *Recuento total de microorganismos aerobios mesófilos (RAM)*

La determinación de este parámetro proporciona a la industria el número total de microorganismos presentes en una determinada superficie, capaces de desarrollar en presencia de oxígeno a una temperatura mesófila (20-45 °C), siendo la temperatura óptima entre 30 °C y 40 °C. Asimismo, proporciona información sobre la población microbiana total (bacterias, mohos y levaduras) capaces de desarrollarse bajo las condiciones establecidas.



Este método es muy valioso para validar y verificar los procedimientos de higienización. Sin embargo, no puede utilizarse como indicador de seguridad para los microorganismos de deterioro o patógenos, porque en casi todos los casos no existe correlación entre los recuentos y la presencia de estos microorganismos. Un recuento total bajo indica que la higienización de un entorno o un equipo específico ha sido efectiva, esto no asegura la ausencia de deterioro o patógenos. Del mismo modo, un recuento total elevado sugiere que los procesos de higienización no se han realizado de manera adecuada o no han sido efectivos, pero no implican la presencia de microorganismos alterantes o patógenos.

### *Enterobacterias*

Las *Enterobacteriaceae*, denominadas como “Enterobacterias”, representan un grupo diverso de bacterias Gram-negativas, que incluye todas las bacterias coliformes. Son bacilos oxidasa negativos, no formadores de esporos, los cuales fermentan la glucosa con producción de ácido y/o dióxido de carbono gaseoso. A pesar de que incluyen géneros considerados patógenos, como *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* y *E. coli* patógenas se considera un grupo de prueba de indicadores y no un método para monitorear la presencia de patógenos.

La búsqueda de estos microorganismos sirve para indicar una limpieza inadecuada, condiciones insalubres o contaminación posterior al proceso. Las pruebas de *Enterobacteriaceae* tampoco detectan todas las bacterias Gram-negativas, como por ejemplo, la especie *Pseudomonas* con lo cual se recomienda utilizar el ensayo en combinación con otras pruebas de indicadores (como el Recuento total de mesófilos aerobios).

Dentro de este grupo, la principal bacteria empleada como indicador es la *Escherichia coli*, en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal. *E. coli* es un indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos.

### **2.3.2-Microorganismo patógenos**

El muestreo de microorganismos patógenos en la sala de elaboración suministra una información valiosa sobre la incidencia de algún microorganismo particular y su potencial presencia en el alimento terminado. También, brinda información sobre la eficiencia de la limpieza y desinfección, y de las medidas preventivas que operan en el sector. (Michanie Silvia, 2013, p.5).

*Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC)



La bacteria patógena más frecuente que se encuentra en la carne de vacuno es *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC). En particular, la cepa O157: H7 es una bacteria que puede causar graves daños en el revestimiento intestinal llegando a ser mortal en forma de síndrome urémico hemolítico (SUH). Otro patógeno común en la carne vacuna es la *Salmonella* spp.

*Escherichia coli* (*E. coli*) es una bacteria que se encuentra normalmente en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas. Sin embargo, algunas de ellas, como *E. coli* productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas. (Organización Mundial de la Salud, 2018).

*Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC), también conocido como *E. coli* productor de verocitotoxinas (VTEC) son bacterias patógenas anaerobias facultativas Gram-negativas, con forma de bastón, pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*; producen toxinas denominadas toxinas Shiga (Stx) o verotoxinas (Vtx), respectivamente por su similitud con la toxina producida por *Shigella dysenteriae* o por su citotoxicidad para las células VERO.

“*E. coli* O157: H7 es el serotipo de *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC) más importante por su impacto en la salud pública, pero hay también otros serotipos frecuentemente implicados en brotes y casos esporádicos.” (Organización Mundial de la Salud, 2018).

STEC puede diferenciarse según sus antígenos somáticos O y flagelares H en serogrupos (O) o serotipos (O:H); *E. coli* O157:H7 y los serotipos “diferentes a O157” i) O26, O45, O103, O111, O121, O145 en Estados Unidos y ii) O26, O103, O111, y O145 en la UE son los principales serogrupos de STEC patógenos vinculados a infecciones humanas graves (CDC, 2012; USDA-MLG 2020; EFSA, 2020).

### *Salmonella* spp

*Salmonella* es un género de bacilos gramnegativos que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*. Hasta la fecha se han identificado más de 2500 serotipos o serovares diferentes en dos especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella entérica*. *Salmonella* es una bacteria omnipresente y resistente que puede sobrevivir durante varias semanas en un ambiente seco y varios meses en agua.

(Organización Mundial de la Salud, 2018).

Ya que esta bacteria se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza y es bastante



resistente a las condiciones ambientales y muy poco exigente en sus requisitos nutricionales le permite un rápido crecimiento y capacidad de colonización de ambientes muy diversos, entre ellos el agua y los alimentos.

### Salmonelosis

Es una de las principales causas de enfermedades diarreicas transmitidas por los alimentos con grandes brotes o casos esporádicos. La salmonelosis es una enfermedad causada cuando una persona entra en contacto con esta bacteria, que se caracteriza por una aparición aguda de fiebre, dolor abdominal, diarrea (diarreica), náuseas y, a veces, vómitos. Puede pasar por toda la cadena alimentaria desde la alimentación animal, la producción primaria y hasta los hogares o los establecimientos e instituciones de servicios de alimentos. La salmonelosis en humanos generalmente se contrae a través del consumo de alimentos contaminados de origen animal, principalmente huevos, carne, aves y leche, aunque otros alimentos, incluidas frutas y verduras, han sido implicados en su transmisión.

### 2.3.3-Biofilms en superficies

Varios microorganismos patógenos son capaces de formar biofilms, que pueden originar una contaminación persistente en las plantas de procesamiento de alimentos. Diversos estudios han demostrado que *Salmonella*, *E. coli* y muchas otras enterobacterias producen celulosa como exopolisacárido principal de la matriz del biofilm y que la formación de éste resulta esencial para la supervivencia de la bacteria en el ambiente (Lasa et al., 2009).

En la industria de los alimentos las superficies son una de las vías de contaminación más frecuentes. Los biofilms pueden adherirse a superficies como el acero inoxidable, el aluminio o el vidrio. También pueden encontrarse en superficies de contacto con alimentos, como juntas, correas transportadoras y grietas.

Cuando las condiciones son adecuadas, las bacterias se adhieren a las superficies formando biofilms. Los biofilms son comunidades complejas de microorganismos capaces de colonizar y adherirse sobre casi cualquier tipo de superficie formando biopelículas y que en contacto con los alimentos son la causa principal de contaminación del producto final.



### 3. OBJETIVOS

#### **3.1-Objetivo general**

Evaluar microbiológicamente el ambiente para realizar un diagnóstico de la carga de microorganismos indicadores y patógenos (Recuentos de microorganismos, detección de *Salmonella* spp y STEC) existente en el sector de despostada de la planta de manera de prevenir la contaminación cruzada en el producto final. La información obtenida se utilizará en el desarrollo e implementación de un Programa de Monitoreo Ambiental (PMA) para la planta.

#### **3.2-Objetivos específicos**

- Determinar la presencia de microorganismos indicadores (mesófilos aerobios y enterobacterias) y patógenos (*Salmonella* spp y STEC) en las superficies del sector despostada para identificar riesgos microbiológicos en el proceso.
- Seleccionar los lugares de muestreo específicos dentro del sector despostada, usando el concepto de división en zonas.
  - Determinar el método de muestreo utilizado en las distintas zonas.
  - Realizar la toma de muestra en las zonas definidas.
  - Procesar las muestras por métodos validados.
  - Analizar e interpretar los datos de la investigación.
  - Diseñar un programa de monitoreo ambiental (PMA).
  - Demostrar estadísticamente la potencia del PMA.



## 4. METODOLOGÍA

### **4.1- Beneficios de un PMA**

- Mide la eficacia general del diseño sanitario, las prácticas del personal y los métodos operacionales.
- Proporciona información de microorganismos (indicadores y patógenos) de manera oportuna para poder iniciar acciones correctivas apropiadas para prevenir posibles brotes microbianos.
- Actúa como un sistema de alerta temprana para los riesgos microbiológicos en el entorno de la producción y post-producción.
- Ayuda a identificar nichos y puntos sensibles en la planta y que pueden ser un foco de contaminación.
- Es una parte fundamental para documentar el estado sanitario general de la instalación.
- Valida el programa de saneamiento y ayuda a determinar la frecuencia requerida para la limpieza y saneamiento.

### **4.2- Implementación de un PMA**

Para esta implementación se siguieron las directrices de la Norma Voluntaria BRCGS V9 en su requisito 4.11.8 Monitoreo Ambiental con sus cláusulas.

Un PMA debe ser diseñado después de evaluar la instalación y sus productos.

La primera tarea en la implementación de este programa es reunir a personal familiarizado con la operación para colaborar en la identificación de posibles áreas de riesgos en la planta.

De acuerdo con Wiedmann, M., Belias, A., Sullivan, G., & David, J. L. *Manual de monitoreo ambiental* 1, en los programas de muestreo ambiental se utiliza una clasificación por zonas para poder identificar el nivel de riesgo de las áreas o sitios donde el producto puede estar expuesto a la contaminación ambiental luego de un proceso microbiano. El enfoque utilizado para el muestreo es el sistema de 4 zonas que comienza con las superficies en contacto con el producto, y se extiende a áreas fuera de las habitaciones en las que el producto está expuesto. En la zona 1 se buscan generalmente los organismos indicadores y en las zonas 2 a 4 se muestrea para indicadores y patógenos.

En la mayoría de los países y regiones, los puntos de muestreo en las plantas de procesamiento se asignan a una de cuatro zonas: (i) La Zona 1 es el área de mayor



riesgo que consiste en superficies expuestas de contacto con los alimentos; (ii) La Zona 2 contiene superficies de no contacto con los alimentos en estrecha proximidad a los alimentos y superficies de contacto con los alimentos, (iii) La Zona 3 contiene superficies de no contacto con los alimentos, más alejadas, ubicadas en el área de procesamiento o cerca de ella; (iv) La Zona 4 incluye superficies de no contacto con los alimentos fuera de las áreas de procesamiento. (3M/Cornell University, p.6).

La frecuencia de muestreo y cantidad de muestras se debe establecer en función de las características del alimento según favorezca o no la multiplicación de los microorganismos, el tipo de elaboración (si destruye el agente) y la posibilidad o no de recontaminación. Se debe tener en consideración también el estado de higiene general de la planta y los antecedentes de la presencia del microorganismo en el ambiente. En el presente trabajo las muestras se tomarán según la Norma ISO 18593:2018 Microbiología de la cadena alimentaria, métodos horizontales para toma de muestras de superficies.

Es importante comparar los resultados del monitoreo ambiental con un nivel objetivo o con una línea de base. Estos niveles son los límites de acción, valor que distingue lo “aceptable” de lo “no aceptable”, si se sobrepasa puede afectar la inocuidad (Producto NO conforme) y requiere una acción correctiva, y los límites de advertencia, valor que indica si la medida de control implementada funciona tal como se ha diseñado, si se sobrepasa se requiere de una acción preventiva. Cualquier aumento en los microorganismos indicadores o patógenos deben ser monitoreados. Estos resultados indican una posible desviación en las condiciones sanitarias por lo tanto se debe iniciar una acción correctiva apropiada para llevar los valores por debajo o cercanos a la línea de base o nivel objetivo elegido. Como ejemplo de acciones correctivas podemos tomar el cambio de desinfectante y/o la frecuencia de la desinfección o limpieza. Estas acciones correctivas dependen de las distintas zonas de muestreo asignadas.

Las muestras de este estudio se tomaron en el sector de despostada del frigorífico elegido y los ensayos microbiológicos se realizaron en el laboratorio interno de la planta del mismo, el cual se encuentra destinado y acondicionado para el control de la calidad del producto elaborado. El recurso humano con el cual se contó para realizar el trabajo fue personal de laboratorio y calidad responsables de las tomas de muestra y de los análisis de las mismas. Además, la empresa dispuso recursos financieros para solventar gastos, como así también planos de las instalaciones y flujograma del proceso. Se utilizó el sistema informático interno de la empresa para obtener datos históricos, usando para el ordenamiento y el análisis de los datos el programa Microsoft Excel y el software estadístico infoStat.



### **4.3-Tipo de estudio**

Este trabajo se llevó a cabo mediante un estudio experimental del tipo descriptivo analítico con un enfoque cuali-cuantitativo.





## 5. POBLACIÓN OBJETIVO O PARTICIPANTE

### **5.1-Universo de estudio**

Todas las superficies que pueden tener una alta probabilidad de transformarse en un nicho o eventualmente en un biofilm y que podrían potencialmente contaminar el producto en el sector despostada del frigorífico de carne vacuna mencionado en este trabajo.

### **5.2-Unidad de análisis/muestreo**

Fueron evaluadas durante el periodo de 4 meses un total de 496 muestras entre ellas superficies de contacto directo con el producto (Zona 1), superficies de no contacto con el producto cercanas a la Zona 1 (Zona 2), superficies de no contacto con el producto en áreas de procesamiento abierto (Zona 3) y áreas auxiliares (Zona 4) en el sector de despostada del frigorífico objeto de este trabajo.

### **5.3-Criterios de inclusión y exclusión**

Este enfoque se realizó y evaluó en base al riesgo de contaminación del producto (cortes de carne bovina) teniendo en cuenta la estructura, los flujos de tráfico del personal, ingredientes y embalaje y cualquier área de contaminación cruzada. También se consideró posibles contaminantes presentes en la materia prima, el flujo de aire, las áreas de soporte y las actividades que se llevan a cabo en las instalaciones.

#### **Descripción del proceso productivo de Cortes envasados al Vacío**

Se describe brevemente el proceso de producción de Cortes de carne vacuna envasada al vacío que se lleva a cabo en el sector despostada del Frigorífico. Se aclara que el proceso de interés se encuentra completamente independizado del sector Faena.

✓ Los cuartos son retirados por los operarios desde la cámara pulmón hasta la entrada de despostada. Una vez que llegan al sector, son traqueados (control de peso y trazabilidad). Seguidamente, se retiran las etiquetas identificadoras y son trasladados por rielera aérea hasta el palco de Dressing. Aquí se retira el número de Garrón, el sello oval y otros sellos si los hubiese, mediante un corte superficial produciendo el menor daño posible a los cortes anatómicos. En caso de presentarse otra materia no deseada (coágulos, colgajos, etc.) también es retirada de la misma forma.

✓ Posteriormente se empuja el cuarto con gancho hasta el puesto de transferencia



de cuartos donde 1 o 2 operarios realizan el cambio de este, de la roldana al gancho de la noria. Esta tarea se debe realizar de tal forma que cuando se tiene contacto con la roldana no se toque la carne. A lo largo de la línea de los despostadores se desprenden los distintos cortes anatómicos y con ayuda de un gancho se arroja a la cinta transportadora para su posterior charqueo.

✓ Los huesos caen a la cinta de transporte donde se transfieren a la cinta final de huesos donde hay mesas contiguas para que operarios puedan realizar el pelado de huesos y volverlos luego a la misma.

✓ Finalmente, los huesos son dirigidos por la cinta fuera de la sala de desposte a la sala de triturado, donde se despacha en camión tolva.

✓ Luego del desposte, los charqueadores prolijan los cortes quitando membranas/coágulos/ganglios/machucones/abscesos entre otros, para luego ser arrojados nuevamente a la cinta transportadora de las mesas de charqueo.

✓ El personal del sector lava y esteriliza los utensilios en el sector de trabajo, para luego depositarlas en la sala correspondiente para ser nuevamente utilizadas en la campaña siguiente.

✓ Al final de cada cinta de charqueo se efectúa el envasado de los cortes en sus respectivos contenedores primarios (bolsas y/o films plásticos) y el etiquetado según los requerimientos del destino comercial (estas pueden ser suplementadas por identificaciones solicitadas por el cliente). Una vez envasados, los cortes son arrojados manualmente a una doble cinta transportadora en la que al final un operario los distribuye en forma manual hacia las diferentes máquinas de vacío.

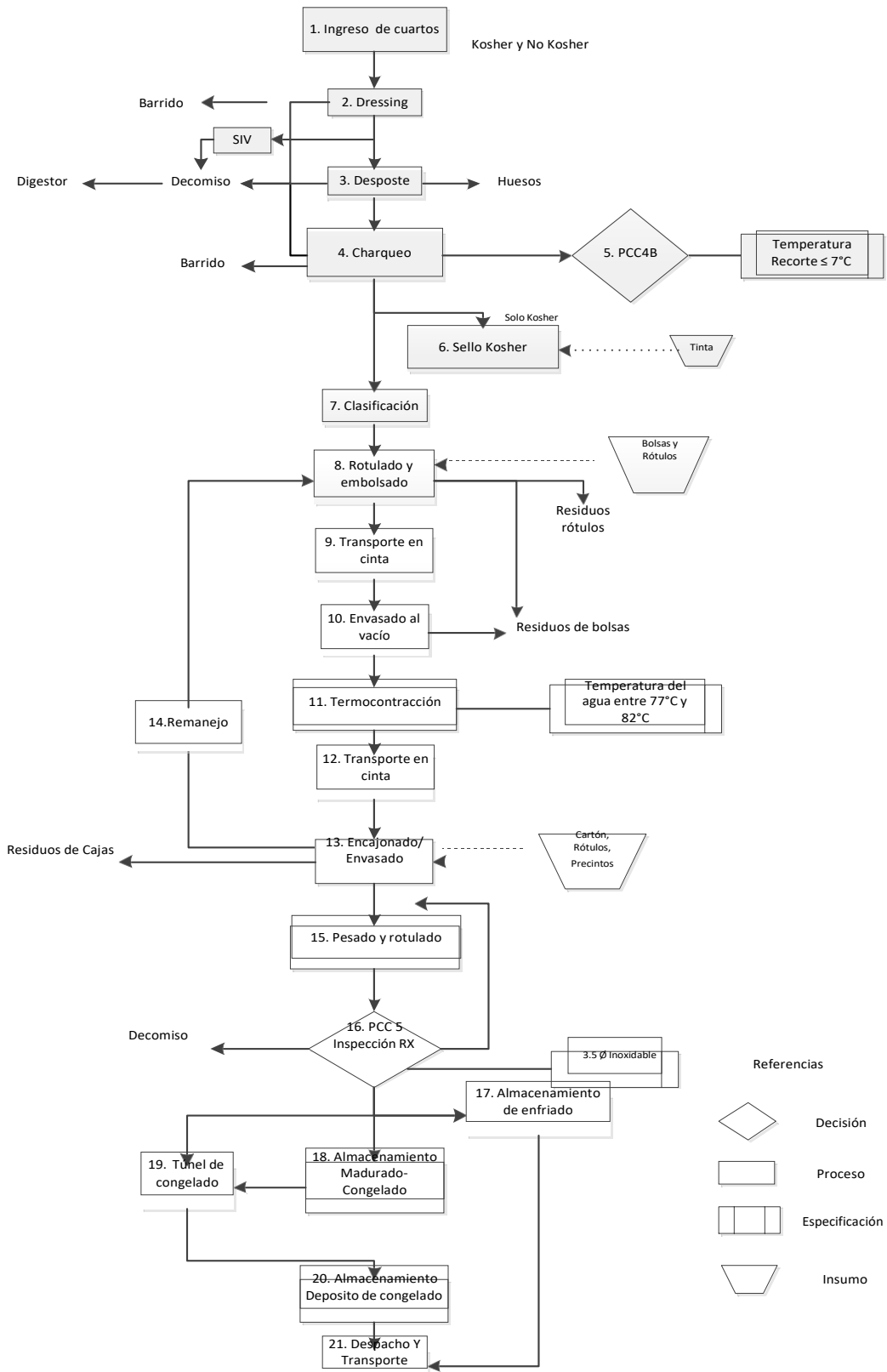
✓ Los cortes en sus contenedores primarios son trasladados hacia las máquinas envasadoras y luego hacia los túneles de termocontracción.

✓ Los cortes provenientes del empaque primario se colocan en sus contenedores secundarios (cajas) según exigencias comerciales de destino y se suplementan según requerimientos del cliente.

✓ Una vez completos los contenedores secundarios, pasan por un puesto de control de peso, donde se emite y adhiere la rotulación externa de los mismos (éstas pueden ser suplementada por identificaciones solicitadas por el cliente). Posteriormente son cerrados con cinta de embalar y si corresponde son fajados con identificaciones sanitarias según destino.

✓ Finalmente, el producto en su caja cerrada se dirige hacia la etapa de inspección por RX para la detección de cuerpos extraños y anomalías, donde de ser detectado un hallazgo se abre la caja se retira el corte y se pone a disposición del supervisor o de control de calidad.

Este proceso puede sintetizarse en el siguiente Flujoograma:

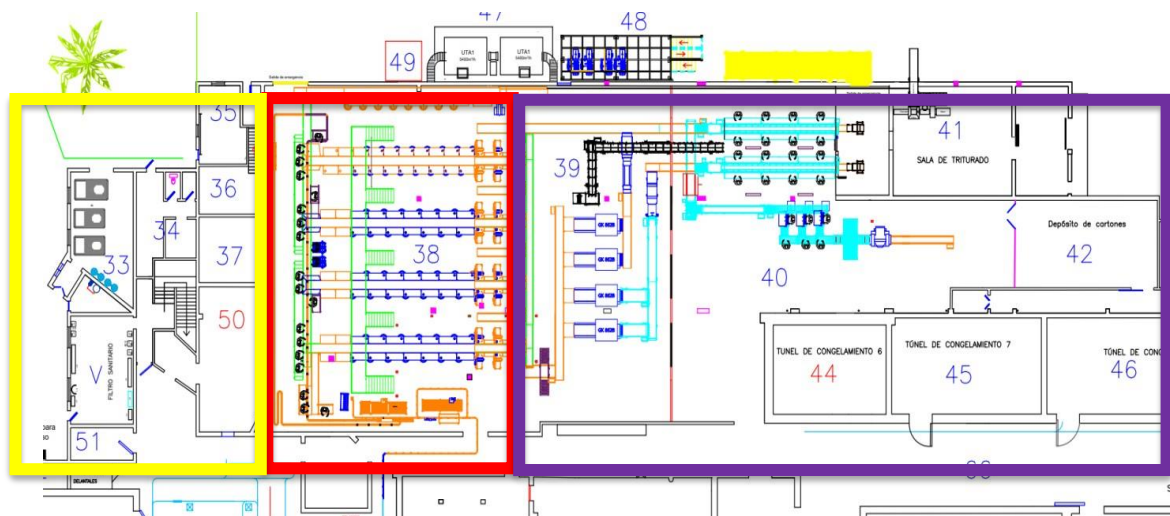


**Ilustración 1. Flujoograma del sector de despostada de planta frigorífica.**

Teniendo en cuenta este flujograma (ver Ilustración 1) y utilizando el plano del sector de despostada de la planta frigorífica quedaron definidas tres áreas: Área de contacto directo con el producto (Zona 1), Área de contacto no directo con el producto (Zona 2 y 3) y Áreas auxiliares (Zona 4) (ver Ilustración 2).

Una vez realizada la identificación de las áreas de acuerdo con los riesgos de contaminación del producto, se realizó una inspección para identificar cuáles eran las superficies pertenecientes a las zonas 1, 2, 3 y 4 dentro de cada área susceptibles de ser muestreadas y controladas.

En la Ilustración 2 se muestran las áreas identificadas en el plano del sector de despostada.



**Referencias:**

- Áreas auxiliares
- Área contacto directo con el producto
- Área contacto no directo con el producto

**Ilustración 2. Plano del sector de despostada de planta frigorífica**

**a) Criterios de inclusión**

- **Zona 1:** Son las superficies en el sector de despostada que estarán en contacto directo con el producto, antes de que sea sellado en el envase principal. Para la búsqueda de posibles patógenos fueron elegidas aquellas superficies que tienen difícil acceso para la limpieza, lugares donde la mercadería se acumula con facilidad, donde hay movilidad y falta de capacitación en su personal. Además se tuvo en cuenta que la empresa no posee datos históricos de dichas superficies seleccionadas.

- Gancho de transferencia,



- Tolvas N°1, N° 2, N° 3, N° 4,
- Mesas de charqueo N° 1, N°2, N° 3, N° 4,
- Mesas de empaque primario N° 1, N°2, N° 3, N° 4 (cortes desnudos)
- Balanzas N° 1, N°2, N° 3, N° 4,
- Utensilios (cuchillo, gancho de mano, delantal),
- Manos de operarios,
- Insumos (etiquetas, bolsas de vacío),
- Batea y mesa de remanejo,
- Mesa de PPC4,
- Bines,
- Ganchos de noria,
- Cinta de despostadores,
- Cintas de transporte de Mesas N°1, N°2, N° 3, N° 4,
- Cinta de hueso

• **Zona 2:** Son las superficies en el sector de despostada de no contacto con el producto, cercanas a la Zona 1 que si se contaminan pudiesen contaminar las superficies de contacto con el producto. En esta zona la selección de superficies para la búsqueda de patógenos fue realizada en base a la dificultad que presentan las superficies para su limpieza.

- Palcos,
- Mesa de peladero de huesos,
- Bandejas colectoras N° 1, N°2, N° 3, N° 4,
- Mesas de empaque primario N°1, N°2, N° 3 (cortes embolsados)
- Porta etiquetas Mesas N°2 y N° 4
- Super Vac N°1, N°2, N° 3, N° 4
- Bandeja protectora de pasarela,
- Cadena de noria,
- Motorolas N°1, N°2, N° 3, N° 4
- Manga de aire,
- Tuberías de agua,
- Rodillos giratorios de cintas de transporte de mesas N°1, N°2, N° 3, N° 4
- Cinta de transferencia de empaque primario,
- Cinta de remanejo,

• **Zona 3** Son superficies en el sector de despostada de no contacto con el producto



en áreas de procesamiento abierto lejanas a las superficies de la Zona 1 que, si se contaminan, pudieran razonablemente provocar una contaminación cruzada del producto. De igual manera que en las zonas anteriores la selección de superficies para analizar presencia de patógenos fue realizada teniendo en cuenta a la dificultad de la limpieza.

- Balanza de empaque secundario,
  - Canastos de plástico,
  - Depósito de cartones,
  - Sala de etiquetas,
  - Defensa de columnas,
  - Paredes,
  - Desagües,
  - Cinta de transporte empaque secundario,
- **Zona 4** Son las superficies de áreas auxiliares de la planta que si no se mantienen en buenas condiciones higiénicas pueden originar una contaminación cruzada en Zonas 1,2 y 3. Debido a la falta de datos históricos en esta zona, para la búsqueda de patógenos se eligieron la totalidad de las superficies.
- Vestuarios,
  - Área de descanso,
  - Sector de lavadelantales,
  - Filtro sanitario,
  - Depósito de utensilios y delantales.

Las superficies de las distintas zonas que estuvieron elegidas para la determinación de los microorganismos indicadores de higiene, fueron definidas de acuerdo con el sistema preventivo de inocuidad, análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP) implementado previamente por la compañía, y según el criterio establecido por el Jefe de Calidad de la empresa.

La tabla 1 resume las superficies y parámetros microbiológicos a estudiar de cada zona.

		Microorganismos	
		Indicadores	Patógenos
Zona 1	Superficies		
	Gancho de transferencia	X	
	Tolva N° 1	X	
	Tolva N° 2	X	
	Tolva N° 3	X	
Tolva N° 4	X		



	Batea y mesa de remanejo	X	
	Bines	X	X
	Mesa de charqueo N° 1	X	
	Mesa de charqueo N° 2	X	
	Mesa de charqueo N° 3	X	
	Mesa de charqueo N° 4	X	
	Mesa de empaque primario N° 1	X	
	Mesa de empaque primario N° 2	X	
	Mesa de empaque primario N° 3	X	
	Mesa de empaque primario N° 4	X	
	Balanza Mesa N° 1	X	X
	Balanza Mesa N° 2	X	X
	Balanza Mesa N° 3	X	X
	Balanza Mesa N° 4	X	X
	Utensilios (cuchillos, ganchos, delantal)	X	
	Manos	X	X
	Insumos (etiquetas y bolsas)	X	
	Mesa de PPC4	X	
	Cinta despostadores	X	
	Cinta de huesos	X	
	Cinta mesa de charqueo N° 1	X	
	Cinta mesa de charqueo N° 2	X	
	Cinta mesa de charqueo N° 3	X	
	Cinta mesa de charqueo N° 4	X	
	Ganchos de noria	X	
Zona 2	Palcos	X	X
	Mesa de peladero de huesos	X	X
	Bandeja colectora Mesa N°1	X	X
	Bandeja colectora Mesa N°2	X	X
	Bandeja colectora Mesa N°3	X	X
	Bandeja colectora Mesa N°4	X	X
	Mesas de empaque primario N°1 (cortes embolsados)	X	X
	Mesas de empaque primario N°2 (cortes embolsados)	X	X
	Mesas de empaque primario N°3 (cortes embolsados)	X	X
	Porta etiqueta Mesa N° 2	X	X
	Porta etiqueta Mesa N° 4	X	X
	Super Vac N°1	X	X
	Super Vac N°2	X	X
	Super Vac N°3	X	X
	Super Vac N°4	X	X
	Bandeja protectora de pasarela	X	



Zona 2	Motorola Mesa N° 1	X	X
	Motorola Mesa N° 2	X	X
	Motorola Mesa N° 3	X	X
	Motorola Mesa N° 4	X	X
	Manga de aire	X	
	Tuberías de agua	X	
	Rodillos cintas Mesa de charqueo N° 1	X	
	Rodillos cintas Mesa de charqueo N° 2	X	
	Rodillos cintas Mesa de charqueo N° 3	X	
	Rodillos cintas Mesa de charqueo N° 4	X	
	Cadena de noria	X	X
	Cintas de transferencia empaque primario	X	X
	Cinta de remanejo	X	
Zona 3	Canastos	X	X
	Depósito de cartones	X	
	Balanzas de empaque secundario	X	X
	Sala de etiquetas	X	X
	Defensa de columnas	X	
	Paredes	X	X
	Desagües	X	X
	Cintas de transporte empaque secundario	X	X
Zona 4	Área de descanso	X	X
	Vestuarios	X	X
	Filtro sanitario	X	X
	Depósito de utensilios y delantales	X	X
	Sector lavadelantales	X	X

Tabla 1. Parámetros microbiológicos establecidos para cada superficie.

**b) Criterios de exclusión**

Se van a excluir por completo todas aquellas superficies que pertenezcan a los sectores de:

- Corrales.
- Playa de faena.
- Cuarteo.
- Menudencia y mondonguería.
- Saladero de cuartos.
- Saladero de menudencias.
- Mantenimiento.
- Almacenes.





- Depósito y túneles.

#### **5.4-VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN**

El trabajo tuvo un enfoque de investigación mixto, se seleccionaron como variable cuantitativa discreta a los organismos indicadores (aerobios mesófilos y enterobacterias) informando recuento de colonias, y como variable cualitativa nominal al microorganismo patógeno (*Salmonella* spp y STEC) informando presencia o ausencia.

## 6. PLANIFICACIÓN DE LAS PRÁCTICAS Y ETAPAS Y PASOS SEGUIDOS EN LA EJECUCIÓN DEL TRABAJO

Para organizar el muestreo, se debió primeramente establecer el número y frecuencia de puntos a muestrear y se verificó estadísticamente que el tamaño de la muestra fuese significativo.

### 6.1-Frecuencia de muestreo y número de muestras

Para poder establecer la frecuencia del muestreo, se realizó una matriz de riesgo en función a la zona y la factibilidad de la limpieza la cual se identificó por color, tal como se muestra en la Tabla 2.

		Dificultad de la limpieza		
		Fácil	Media	Alta
<b>Peligro</b>	<b>Alto (zona 1)</b>	Gancho de transferencia, Tolvas N° 1,2,3,4, Mesas de charqueo N° 1,2,3,4, Mesas de empaque primario N° 1,2,3,4 (cortes desnudos), Balanzas N° 1,2,3,4, Utensilios (cuchillo/gancho de mano/delantal), Manos, Insumos (etiquetas/bolsas de vacío), Batea y mesa de remanejo, Mesa de PCC4, Bines	Gancho de noria	Cinta de despostadores, Cinta de transporte de mesas N° 1,2,3,4, Cinta de huesos
	<b>Medio (zona 2)</b>	Palcos, Mesa de peladero de huesos, Bandejas colectoras Mesa N° 1,2,3,4, Mesas de empaque primario N° 1,2,3 (cortes embolsados), Porta etiquetas Mesa N° 2 y 4	Super vac N° 1,2,3,4, Bandeja protectora de pasarela, Cadena de noria, Motorolas Mesa N° 1,2,3,4	Manga de aire, Tuberías de agua, Rodillos giratorios de cintas mesa N° 1,2,3,4, Cinta de transferencia empaque primario, Cinta de remanejo
	<b>Medio (zona 3)</b>	Balanza de empaque secundario, Canastos de plástico, Depósito de cartones, Sala de etiquetas, Defensa de columnas, Paredes	Desagües	Cinta de transporte empaque secundario

<b>Bajo (zona 4)</b>	Vestuarios, Área de descanso, Sector de lavadelantales, Filtro sanitario, Depósito de utensilios y delantales		
----------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--

FRECUENCIA	
Color verde	Mensual
Color amarillo	Quincenal
Color rojo	Semanal

**Tabla 2. Frecuencias de muestreo sugeridas según el riesgo de contaminación.**

Como se muestra en la Tabla 3, el muestreo quedó configurado de la siguiente forma:

		Frecuencia de muestreo		
		Semanal	Quincenal	Mensual
Zona 1	Superficies			
	Gancho de transferencia		X	
	Tolva N° 1, 2, 3, 4		X	
	Batea y mesa de remanejo		X	
	Bines		X	
	Mesa de charqueo N° 1, 2, 3, 4		X	
	Mesa de empaque primario N° 1, 2, 3, 4		X	
	Balanza Mesa N° 1, 2, 3, 4		X	
	Utensilios (cuchillos, ganchos, delantal)		X	
	Manos		X	
	Insumos (etiquetas y bolsas)		X	
	Mesa de PPC4		X	
	Cinta despostadores	X		
	Cinta de huesos	X		
Cinta mesa de charqueo N° 1, 2, 3, 4	X			
Ganchos de noria	X			
Zona 2	Palcos			X
	Mesa de peladero de huesos			X
	Bandeja colectora Mesa N°1, 2, 3, 4			X
	Mesas de empaque primario N°1, 2, 3 (cortes embolsados)			X
	Porta etiqueta Mesa N° 2 y 4			X
	Super Vac N°1, 2, 3, 4		X	
	Bandeja protectora de pasarela		X	
	Motorola Mesa N° 1, 2, 3, 4		X	

	Manga de aire	X		
	Tuberías de agua	X		
	Rodillos cintas Mesa de charqueo N° 1, 2, 3, 4	X		
	Cadena de noria		X	
	Cintas de transferencia empaque primario	X		
	Cinta de remanejo	X		
<b>Zona 3</b>	Canastos			X
	Depósito de cartones			X
	Balanzas de empaque secundario			X
	Sala de etiquetas			X
	Defensa de columnas			X
	Paredes			X
	Desagües		X	
Cintas de transporte empaque secundario	X			
<b>Zona 4</b>	Área de descanso			X
	Vestuarios			X
	Filtro sanitario			X
	Depósito de utensilios y delantales			X
	Sector lavadelantales			X

**Tabla 3. Superficies elegidas con las frecuencias sugeridas.**

Se tomaron y analizaron en total 496 muestras de 73 superficies existentes en el sector despostada, durante el período comprendido entre diciembre del año 2023 a abril del 2024 (4 meses). Del total, 352 muestras corresponden a la determinación de organismos indicadores y 144 a la detección de patógenos.

Se verificó que el tamaño de la muestra fuera representativa con respecto al tamaño de la población, y siendo este un muestreo aleatorio simple finito se tuvo en cuenta varios factores, como la variabilidad de la población, el nivel de confianza deseado y la precisión requerida en las estimaciones. Si bien hay varias fórmulas y enfoques para calcular el tamaño de muestra, se utilizó la fórmula general para el tamaño de muestra de un muestreo aleatorio simple finito:

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha}^2 \times p \times q}{e^2 \times (N-1) + Z_{\alpha}^2 \times p \times q}$$

**Dónde:**

n= tamaño de muestra requerido.

N = tamaño total de la población (73 superficies).

$Z\alpha$  = parámetro estadístico que se calcula a partir del nivel de confianza, está asociado a la Distribución Normal. En este caso para un nivel de confianza deseado del 95%  $Z\alpha$  es 1.96.

$e$  = error de estimación máximo aceptado. Se trabajó con un 10% de error.

$p$  = probabilidad de que ocurra el evento estudiado (éxito).

$q = (1-q)$  = probabilidad de que no ocurra el evento estudiado (fracaso)

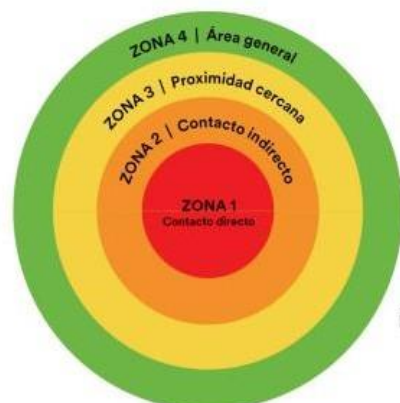
En este caso donde no se tenía información sobre  $p$ , se le debe dar el mismo peso de que ocurra el evento que estoy estudiando como que no ocurra, entonces  $p = 50\%$  y  $q = 50\%$ .

El resultado que se obtuvo fueron 42 muestras necesarias para poder realizar este trabajo, concluyendo que el tamaño de muestra utilizado para este desarrollo es aceptable. (Ver Anexo 2)

### **6.2-Orden de la toma de muestras:**

El orden para la toma de muestra de las superficies de muestreo se realizó en base al número de equipos, tipo de material de la superficie, esquema del proceso de fabricación, ubicación de equipos según el plano del sector de despostada facilitado por la empresa y de acuerdo a los datos históricos de los ensayos microbiológicos para el control de la limpieza utilizados en el proceso de verificación del POES de la planta.

Se dividieron en cuatro zonas según el nivel de riesgo inherente al producto y al proceso, y luego se seleccionaron los diferentes puntos de muestreo dentro de cada una de ellas con el propósito de detectar problemas potenciales. Se avanzó desde las áreas “limpias” hacia las de menor nivel de higiene, como muestra la Ilustración 3, para evitar la contaminación cruzada de la instalación.



**Ilustración 3. División del Programa de Monitoreo Ambiental en zonas (zonificación).**



Estos muestreos se llevaron a cabo en condiciones pre-operacionales, es decir, después de la limpieza y previo a la desinfección e inicio de las operaciones de procesamiento en el turno mañana de la planta.

Para las técnicas de toma de muestras de superficies se utilizó la norma UNE - EN ISO 18593:2018 para métodos horizontales para toma de muestras de superficies, destinada a la detección y recuento de microorganismos cultivables.

Se llevaron a cabo muestreos por hisopado para el recuento de aerobios mesófilos y enterobacterias (organismos indicadores) y esponjado para determinar la presencia de *Salmonella* spp y STEC.

### **6.3.1-Método del hisopo:**

#### **a) Materiales:**

El muestreo se efectuó utilizando los siguientes materiales:

- Solución salina peptonada estéril (preparación según Norma ISO 6887-1).
- Hisopos de algodón estériles.
- Pipetas y micropipetas de 1 ml.
- Guantes estériles.
- Marco estéril de 100cm<sup>2</sup> (10cm x 10cm) de superficie interna.
- Solución de saneamiento: alcohol al 70%.
- Conservador para Transporte de muestras y materiales.
- Escalera de material no poroso (aluminio o acero Inoxidable).

#### **b) Procedimiento:**

1. Preparación previa de los hisopos de algodón: verter 1 ml de solución salina peptonada estéril dentro de cada hisopo estéril.
2. Preparación de la conservadora con los materiales a llevar a planta.
3. Localización de los sitios de muestreo según el cronograma establecido.
4. De forma aséptica se procedió a colocarse los guantes de látex estériles. Los mismos se deben cambiar en cada toma de muestra.
5. En el caso de superficies planas se colocó la planchuela estéril de 10cmx10cm sobre la superficie a muestrear.
6. Se presionó ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución.
7. Con la punta del hisopo estéril inclinado en un ángulo de 30° se frotó 10 veces en dirección vertical y 10 veces en dirección horizontal rotando el hisopo entre el pulgar y el

índice sobre el área estimada.

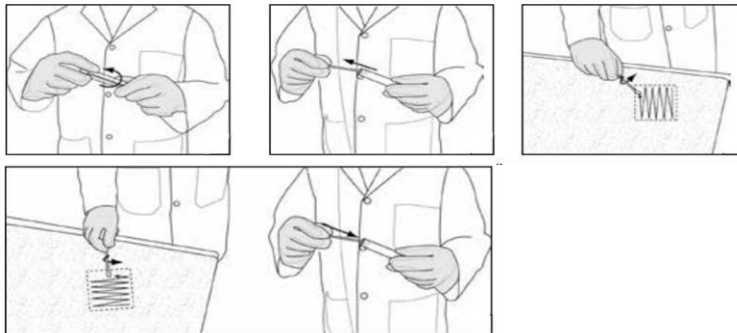
8. En el caso de superficies pequeñas de difícil acceso o irregulares se recogió la mayor cantidad de superficie posible.

9. Se devolvió el hisopo al tubo con diluyente, el cual debe quedar cerrado de forma que el hisopo permanezca húmedo hasta el análisis.

10. Se rotulan los hisopos identificando el sitio muestreado, hora y fecha de toma de muestra.

11. Las muestras recogidas se llevaron al laboratorio para su análisis. Las mismas se almacenaron refrigeradas a una temperatura entre los 2 a 8°C hasta su análisis. El tiempo transcurrido entre la toma de muestra y el ensayo no superó las 24 horas desde la recolección.

En la Ilustración 4 se ve un ejemplo de toma de muestras en superficies por medio de la técnica antes descrita.



**Ilustración 4. Técnica de hisopado de superficies.**

### 6.3.2-Método de la esponja:

#### a) Materiales:

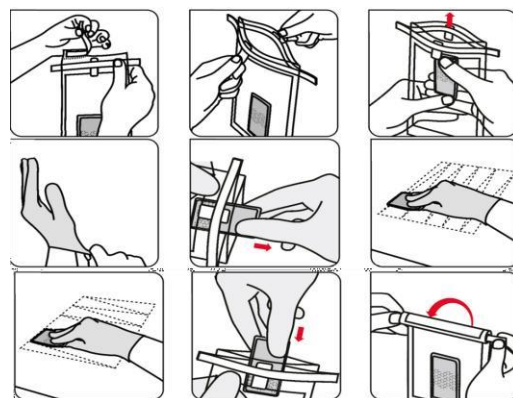
El muestreo se efectuó utilizando los siguientes materiales:

- Solución de agua de peptona bufferada estéril (BPW) (preparación según Norma ISO 6887-1).
- Bolsas tipo Whirl-pack con esponjas estériles.
- Pipetas y micropipetas de 10 ml.
- Guantes estériles.
- Conservador para Transporte de muestras y materiales.
- Escalera de material no poroso (aluminio o acero Inoxidable).

#### b) Procedimiento:

1. Preparación previa de las bolsas con esponja: verter 10 ml de agua de peptona bufferada estéril dentro de la bolsa estéril de tipo Whirl-pack con la esponja.
2. Preparación de la conservadora con los materiales a llevar a planta.
3. Localización de los sitios de muestreo según el cronograma establecido.
4. Se abrió la bolsa y se comenzó desde la parte externa de la bolsa a mover la esponja hacia la parte superior de la misma.
5. De forma aséptica se procedió a colocar los guantes de látex estériles. Los mismos se deben cambiar en cada toma de muestra.
6. Con la mano enguantada se extrajo la esponja del interior de la bolsa con los dedos pulgar e índice.
7. Ejerciendo una presión firme y constante se tomó toda el área escogida en dirección horizontal y vertical, cambiando la cara de la esponja.
8. Se devolvió la esponja a su bolsa y se cerró doblando sobre sí mismo el borde superior, de forma que asegure que no se van a producir fugas ni contaminación cruzada.
9. Se rotulan las bolsas con esponja identificando el sitio muestreado, hora y fecha de toma de muestra.
10. Las muestras recogidas se llevaron al laboratorio para su análisis. Las mismas se almacenaron refrigeradas a una temperatura entre los 2 a 8°C hasta su análisis. El tiempo transcurrido entre la toma de muestra y el ensayo no debía exceder las 24 horas desde la recolección.

En la Ilustración 5 se ve un ejemplo de toma de muestra en superficies por medio de la técnica de esponjado.



**Ilustración 5. Técnica de esponjado de superficies.**





**6.4-Análisis microbiológico de las muestras**

Los ensayos microbiológicos se realizaron utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la ISO, AOAC, ICMSF, entre otros (ver Cuadro 1).

**Cuadro 1. Métodos de análisis microbiológicos normalizados.**

MÉTODO	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS REALIZADOS
<p><b>HISOPADO</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>● <b>Método 1:</b> Recuento estándar en placa de microorganismos aerobios descrito en el volumen 1, segunda edición ICMSF</li> <li>● <b>Método rápido de análisis:</b> Placas Petrifilm de 3M para el recuento de <i>Enterobacteriaceae</i> (EB). Método aprobado por:               <ul style="list-style-type: none"> <li>❖ AFNOR Certificate Number 3M 01/6-09/97 (as compared to ISO 21528 part 2 VRBG method).</li> </ul> </li> </ul> <p>AOAC® INTERNATIONAL Official Method of Analysis<sup>SM</sup> Method 2003.01</p>
<p><b>ESPONJA</b></p>	<p>Se utilizó el equipo de GENE-UP, el cual es un ensayo mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para la detección de los genes <i>stx</i> y <i>eae</i> de la <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>), <i>Salmonella</i> spp, <i>E. coli</i> O157:H7 y serotipos de EHEC distintos de O157 en productos alimenticios y muestras ambientales. Método aprobado por:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>❖ Por el Instituto de investigación AOAC (Certificado n° 121806) para la detección de <i>E. coli</i> entero hemorrágica (O26, O45, O103, O111, O121, O145, O157) en una selección de alimentos.</li> <li>❖ AOAC INTERNATIONAL como Official Method of Analysis (Certificado n° 2020.06) para la detección de <i>E. coli</i> entero hemorrágica (O26, O45, O103, O111, O121, O145, O157) en una selección de alimentos.</li> <li>❖ Por el Instituto de investigación AOAC (Certificado n° 121805) para la detección de <i>E. coli</i> O157:H7 en alimentos seleccionados.</li> </ul>



	<ul style="list-style-type: none"><li>❖ Microval (Certificado N° 2015LR59) como un método alternativo para la detección de <i>E. coli</i> O157:H7 en carnes frescas y crudas congeladas, carnes crudas y fermentadas, verduras, productos lácteos sin procesar y muestras ambientales.</li><li>❖ AOAC Research Institute como Performance Tested Method (Certificado n° 121802) para la detección de <i>Salmonella</i> en diversos alimentos y matrices de superficies ambientales.</li><li>❖ AOAC INTERNATIONAL como Official Method of Analysis (Certificado n° 2020.02) para la detección de <i>Salmonella</i> en una gran variedad de alimentos y muestras ambientales.</li><li>❖ NF VALIDATION en ISO 16140 para la detección de <i>Salmonella</i> en todos los productos alimenticios para consumo humano.</li></ul>
--	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Fuente: Elaboración propia

#### 6.4.1- Procedimiento de análisis microbiológico con aplicación del método del hisopo:

1. Antes de procesar las muestras, los tubos se agitaron con fuerza.
2. Cada muestra de hisopo se recogió asépticamente en una bolsa tipo Whirl-pack estéril con 10ml de solución salina peptonada estéril.
3. Se rotuló cada bolsa identificando la superficie.
4. El contenido se homogeneizó de manera exhaustiva a mano. A partir de allí, se tiene una suspensión homogénea de microorganismos que permite la preparación de las diluciones decimales adecuadas en caso de ser necesario. Para ello, se añade 1 ml de muestra a 9 ml de diluyente; es decir de cada 10 ml de esta dilución 1/10, 1 ml corresponde a la muestra. De esta manera se pueden preparar diluciones sucesivas, por ejemplo, si se requiere la dilución 1/100, ó expresado de otro modo la dilución  $10^{-2}$ , a partir de esta dilución 1/10, se toma 1 ml y se añade a 9 ml de diluyente.
5. Se llevó a cabo la siembra e incubación de las muestras según las siguientes determinaciones:

➤ **Método 1: Recuento estándar en placa de microorganismos aerobios**

**a) Materiales:**

- Placas de Petri de plástico (90 x 15 mm).
- Baño de agua para fundir y mantener el medio fundido a 44-46°C.
- Estufa de cultivo que permita trabajar a  $35^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ .



- Pipetas y micropipetas de 1 ml.
- Agar para recuento en placa (Agar de los Standard Methods; Medio 92 - volumen 1, segunda edición ICMSF).

**b) Procedimiento:**

1. Se colocaron sobre la mesada de siembra del laboratorio las placas de Petri.
2. Se las rotuló con tinta indeleble identificando la muestra y dilución realizada.
3. Se fundió el agar para recuento en placa utilizando Baño María y procurando que este tratamiento térmico no sea excesivamente prolongado. El mismo se dejó templar a 44-46°C (controlar cuidadosamente su temperatura para que al mezclarlo con la dilución no sean inactivados los gérmenes).
4. Se pipeteó por duplicado en placas de Petri alícuotas de 1 ml de la suspensión inicial y de las diluciones decimales pertinentes ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ).
5. Se volcó inmediatamente en las placas de Petri 10-15 ml de medio fundido y templado. El periodo de tiempo transcurrido entre la realización de las diluciones y el vertido del medio no debe superar los 20 minutos, siendo preferible un tiempo inferior a 10 minutos.
6. Acto seguido, se mezcló el inóculo con el medio fundido, inclinando y girando las placas.
7. Una vez solidificado el agar, se invirtieron las placas y se incubaron a  $35\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  durante 48 horas  $\pm$  2 horas.
8. El recuento de colonias se realizó eligiendo dos placas correspondientes a una dilución que presentaron entre 30 a 300 colonias. Luego se obtuvo la media aritmética, para superficies regulares el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicó por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (10 ml), el resultado se dividió entre el área de la superficie hisopada o muestreada ( $100\text{ cm}^2$ ). (Ver Anexo 3). Para superficies irregulares, el número de colonias obtenido (ufc) se multiplicó por el factor de dilución y por el volumen de la solución diluyente usada en el muestreo (10 ml), el resultado se dividió entre el área de la superficie estimada para cada elemento. (Ver Anexo 3).
9. Los resultados se expresaron en UFC/cm<sup>2</sup>.

En la Ilustración 6 se ve de forma gráfica el procedimiento anteriormente descrito.

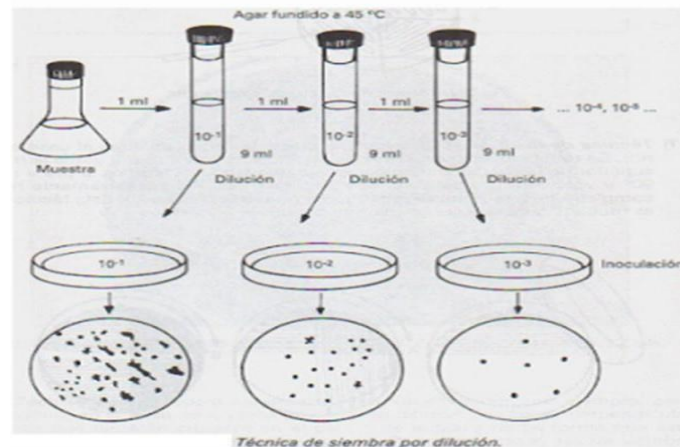


Ilustración 6. Técnica de siembra por dilución.

➤ **Método rápido de análisis: Placas Petrifilm de 3M para el recuento de *Enterobacteriaceae* (EB).**

**a) Materiales:**

- Placas Petrifilm 3M para el Recuento de *Enterobacteriaceae*.
- Estufa de cultivo que permita trabajar a  $35^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- Pipetas y micropipetas de 1 ml.

**b) Procedimiento:**

1. Se colocaron sobre la mesada de siembra del laboratorio las placas de Petrifilm EB.
2. Se las Rótulo con tinta indeleble identificando el número de muestra y dilución realizada.
3. Se levantó la película superior.
4. Con una pipeta o micropipeta se colocó 1ml de suspensión de muestra en el centro de la película inferior. Lo mismo se realizó para las diluciones decimales pertinentes.
5. Se bajó cuidadosamente el film superior sobre la muestra evitando que se formen burbujas de aire.
6. Se colocó el aplicador con la cara lisa hacia abajo en el centro de la placa y se presionó ligeramente el centro del aplicador para distribuir la muestra uniformemente.
7. Se sacó el aplicador y se dejó la placa en reposo durante al menos 1 minuto para que solidifique el gel.
8. Se incubaron las placas en posición horizontal con el lado transparente hacia arriba

en pilas de hasta 20 placas, durante  $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$  a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

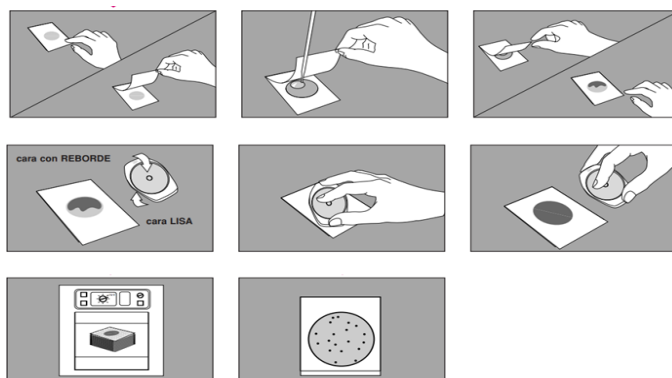
9. Se contaron las colonias rojas con zonas amarillas y/o colonias rojas con burbujas de gas con o sin zonas amarillas. Las colonias no asociadas con el gas (distancia mayor al diámetro de una colonia entre esta y burbuja de gas), ni asociadas con una zona amarilla no se cuentan como *Enterobacteriaceae*.

10. Luego se obtuvo la media aritmética, para superficies regulares el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicó por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (10 ml), el resultado se dividió entre el área de la superficie hisopada o muestreada ( $100\text{ cm}^2$ ). (Ver Anexo 3).

Para superficies irregulares, el número de colonias obtenido (ufc) se multiplicó por el factor de dilución y por el volumen de la solución diluyente usada en el muestreo (10 ml), el resultado se dividió entre el área de la superficie estimada para cada elemento. (Ver Anexo 3).

11. Los resultados se expresaron en  $\text{UFC}/\text{cm}^2$ .

En la Ilustración 7 se muestra la técnica de siembra en placas de petrifilm.



**Ilustración 7. Técnica para el recuento de *Enterobacteriaceae* (EB) por placas petrifilm de 3M.**

#### 6.4.2- Procedimientos de análisis microbiológico con aplicación del método de la esponja:

➤ **Determinación de STEC (stx&eae) por PCR en tiempo real (GENE-UP)**

**a) Materiales:**

- Bolsas tipo Whirl-pack con esponjas estériles.
- Guantes de látex o nitrilo sin talco y algodón.



- Solución de saneamiento: alcohol al 70%.
- Incubadora mantenida a  $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- Agua de peptona Bufferada (BPW) (preparación según Norma ISO 6887-1).
- Micropipetas de 10 - 100 $\mu\text{l}$ , 100 - 1000 $\mu\text{l}$ .
- Tips estériles para las micropipetas.
- Baño termostático.
- Kit GENE-UP Lisis.
- Kit de PCR para STEC - stx & eae.
- Agitador de tipo vórtex Troemner.
- Termociclador GENE-UP.
- Centrifuga de placas.

**b) Procedimiento:**

**Enriquecimiento de la muestra:**

1. Se añadió 100 ml de agua de peptona bufferada estéril (BPW) pre-calentado a  $42\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  a la bolsa tipo con la esponja.
2. Se mezcló manualmente el contenido de la bolsa tipo Whirl-pack con esponja.
3. Se incubó a  $42^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 8 - 24hs.
4. Se retiró la bolsa de la incubadora y se mezcló manualmente el contenido de la bolsa tipo Whirl-pack con esponja.
5. Se esperó a que los caldos de enriquecimiento alcancen una temperatura de  $+15^{\circ}\text{C}/+25^{\circ}\text{C}$ . Las muestras enriquecidas no se deben desechar hasta que finalice el análisis y se haya confirmado que no es necesario realizar pruebas complementarias, pudiéndose conservar a  $+2^{\circ}\text{C}/8^{\circ}\text{C}$  durante 72 horas como máximo.

**Lisis:**

1. Se creó en el software GENE-UP Routine el mapa de placa para determinar el número de tubos de lisis necesarios del kit GENE-UP Lisis y se colocó en la gradilla GENE-UP para tubos de lisis.
2. Se acopló la gradilla GENE-UP para tubos de lisis en el soporte para gradillas GENE-UP.
3. Se transfirió 10  $\mu\text{l}$  de muestra al tubo de lisis.
4. Se retiró la gradilla GENE-UP para tubos de lisis del soporte para gradillas GENE-UP.
5. Se acopló el soporte GENE-UP para tubos de lisis en el adaptador para agitador vórtex Troemner.



6. Se puso en marcha el agitador vórtex a 2200 rpm durante 5 minutos.
7. Cuando la lisis hubo finalizado, se retiró la gradilla GENE-UP para tubos de lisis del adaptador para agitador vórtex Troemner.
8. Se acopló la gradilla GENE-UP para tubos de lisis en el soporte para gradillas GENE-UP y se continuó con la preparación final para la PCR.

**Preparación final para la PCR:**

1. Se creó en el software GENE-UP Routine el mapa de placa para determinar el número de tubos de PCR necesarios del kit GENE-UP PCR y se colocó en la gradilla GENE-UP para tubos de PCR.
2. Se aseguró de que el sedimento de las tiras se encuentre en el fondo de los tubos.
3. Se abrió los tapones con cuidado para evitar derramar las pastillas liofilizadas.
4. Se comprobó visualmente que los pellets liofilizados están presentes en el fondo de cada tubo.
5. Se transfirió 10 µl de muestra lisada al tubo de PCR adecuado. No se debe agitar el lisado antes de aspirar la muestra, el material sólido debe mantenerse en el fondo del tubo.
6. Se colocó y se selló las tiras de tapones en las tiras de tubos con la herramienta GENE-UP para extracción de tubos de lisis.
7. Se situó la gradilla GENE-UP para tubos de PCR con los tubos de PCR en la centrífuga de placas. Se centrifugó durante 10 segundos.
8. Finalmente se ubicó la placa en el equipo GENE-UP.

➤ **Determinación de *Salmonella* por PCR en tiempo real (GENE-UP)**

**a) Materiales:**

- Bolsas tipo Whirl-pack con esponjas estériles.
- Guantes de látex o nitrilo sin talco y algodón.
- Solución de saneamiento: alcohol al 70%.
- Incubadora mantenida a 42 °C ± 1°C.
- Agua de peptona Bufferada (BPW) (preparación según Norma ISO 6887-1).
- Micropipetas de 10 - 100µl, 100 - 1000µl.
- Tips estériles para las micropipetas.
- Baño termostático.
- Kit GENE-UP Lisis.
- Kit de PCR para *Salmonella*.



- Agitador de tipo vórtex Troemner.
- Termociclador GENE-UP.
- Centrifuga de placas.

**b) Procedimiento:**

**Enriquecimiento de la muestra:**

1. Se añadió 100 ml de agua de peptona bufferada estéril (BPW) pre-calentado a 42 °C  $\pm$  1°C a la bolsa tipo con la esponja.
2. Se mezcló manualmente el contenido de la bolsa tipo Whirl-pack con esponja.
3. Se incubó a 42°C  $\pm$  1°C durante 8 - 24hs.
4. Se retiró la bolsa de la incubadora y se mezcló manualmente el contenido de la bolsa tipo Whirl-pack con esponja.
5. Se esperó a que los caldos de enriquecimiento alcancen una temperatura de +15°C/+25°C. Las muestras enriquecidas no se deben desechar hasta que finalice el análisis y se haya confirmado que no es necesario realizar pruebas complementarias, pudiéndose conservar a +2°C/8°C durante 72 horas como máximo.

**Lisis:**

1. Se creó en el software GENE-UP Routine el mapa de placa para determinar el número de tubos de lisis necesarios del kit GENE-UP Lisis y se colocó en la gradilla GENE-UP para tubos de lisis.
2. Se acopló la gradilla GENE-UP para tubos de lisis en el soporte para gradillas GENE-UP.
3. Se transfirió 20  $\mu$ l de muestra al tubo de lisis.
4. Se retiró la gradilla GENE-UP para tubos de lisis del soporte para gradillas GENE-UP.
5. Se acopló el soporte GENE-UP para tubos de lisis en el adaptador para agitador vórtex Troemner.
6. Se puso en marcha el agitador vórtex a 2200 rpm durante 5 minutos.
7. Cuando la lisis haya finalizado, se retiró la gradilla GENE-UP para tubos de lisis del adaptador para agitador vórtex Troemner.
8. Se acopló la gradilla GENE-UP para tubos de lisis en el soporte para gradillas GENE-UP y se continuó con la preparación final para la PCR.

**Preparación final para la PCR:**

1. Se creó en el software GENE-UP Routine el mapa de placa para determinar el



número de tubos de PCR necesarios del kit GENE-UP PCR y se colocó en la gradilla GENE-UP para tubos de PCR.

2. Se dio un golpecito a las tiras colocadas en la mesa para asegurarse de que el sedimento se encuentra en el fondo de los tubos.

3. Se abrió los tapones con cuidado para evitar derramar las pastillas liofilizadas.

4. Se comprobó visualmente que los pellets liofilizados están presentes en el fondo de cada tubo.

5. Se transfirió 10 µl de muestra lisada al tubo de PCR adecuado. No se debe agitar el lisado antes de aspirar la muestra, el material sólido debe mantenerse en el fondo del tubo.

6. Se colocó y se selló las tiras de tapones en las tiras de tubos con la herramienta GENE-UP para extracción de tubos de lisis.

7. Se situó la gradilla GENE-UP para tubos de PCR con los tubos de PCR en la centrífuga de placas. Se centrifugó durante 10 segundos.

8. Finalmente se ubicó la placa en el equipo GENE-UP.

Para mayor entendimiento en la Ilustración 8 se presenta este procedimiento de forma gráfica.



**Ilustración 8. Flujo de trabajo del equipo de PCR en tiempo real (GENE-UP).**

**Resultados e interpretación:**

Los resultados se interpretan automáticamente una vez que se ha completado el análisis de PCR. El software Routine interpreta los datos para cada muestra y ofrece un resultado positivo, negativo o inhibido.

<b>No detectado</b>		→	Resultados finales al final de PCR GENE-UP
<b>Presuntivo positivo</b>		→	Requiere pruebas adicionales - la confirmación es obligatoria (GENE-UP = método alternativo)
<b>Inhibido</b>		→	Requiere pruebas adicionales: no es posible usar resultados directos (posiblemente falso negativo, algo salió mal)

**6.5-Plan de análisis de datos**

Los resultados obtenidos de los análisis de las distintas muestras a lo largo de todo el monitoreo, se registraron en planillas donde se identificó fecha y hora de la toma de muestra, superficie de muestreo, zona a la que pertenece, resultados de las determinaciones, método, personal responsable de la toma de la muestra y técnico analista.

Los datos se procesaron y analizaron para establecer tendencias y tener un conocimiento más exacto del ambiente y de las superficies capaces de contaminar el alimento. Para ello se utilizaron las planillas de cálculo Excel y el software estadístico infoStat. La estadística descriptiva se utilizó para agrupar, presentar y valorar los datos con el fin de descubrir las diferentes características, regularidades o patrones que presentó el conjunto de datos obtenidos. Los tipos de variables estudiadas fueron cuantitativa discreta y cualitativa nominal, y el muestreo fue probabilístico aleatorio simple.

El conjunto de datos no numéricos se organizó en una tabla de distribución porcentual y se representaron gráficamente por medio de un gráfico de tortas.

Para los datos numéricos se construyó una tabla de distribución de frecuencias, se utilizaron las medidas de posición media aritmética o promedio, desviación estándar y coeficiente de variación como medidas de dispersión. Los gráficos de barras, de series y de secuencia temporal se utilizaron para representar estos resultados.

Estos datos estadísticos se usaron para evaluar la tendencia de los datos microbiológicos a



lo largo de los 4 meses de muestreo.

### **6.6-Límites microbiológicos**

Los límites microbiológicos se utilizaron como referencia para determinar si el nivel de higiene y desinfección de las superficies evaluadas se podía considerar o no aceptable.

Cabe destacar, que, como criterio general, para resultados del recuento de bacterias aeróbicas totales y enterobacterias la empresa utiliza como referencia los límites establecidos en la directiva derogada D 2001/471/CE que establece límites de aceptación para los análisis microbiológicos de la superficie de locales y equipos (ver Anexo 1).

Además, se tuvo en cuenta los criterios microbiológicos que se aplican en la industria frigorífica bovina, para establecer de forma objetiva la aptitud de las materias primas o producto alimenticio. Entre estos últimos se pueden nombrar Código Alimentario Argentino (CAA). Capítulo VI, Normativa N° 161 (República Federativa de Brasil), Orden de servicio N° 1/2016 (ISRAEL), FSIS Directive 10010.1 Rev 5 (USA), Circular 4221 (CANADA), Reglamento (CE) N° 2073/2005 (Unión Europea).

En este trabajo, se tomó como estrategia general tomar muestras de diferentes puntos pertenecientes a una misma zona, intensivamente, durante un periodo de entre 2 a 5 meses con el objetivo de establecer los niveles de punto de partida (muestreo preliminar de investigación) en UFC/cm<sup>2</sup>. Adicionalmente, se aprovecharon los datos históricos con los que cuenta la planta en relación con los recuentos de indicadores. Esto ayudó a comprender las tendencias y variaciones en los indicadores a lo largo del tiempo, lo que facilitó la determinación de valores límites.

Se determinaron los límites de alerta y de acción en base a los resultados obtenidos de los análisis realizados a cada zona, utilizando la desviación estándar y la media.

#### *Nivel de alerta a 2 sigmas (2σ)*

Es el límite de alerta que indica si la medida de control implementada funciona tal como se ha diseñado, si se sobrepasa se requiere de una corrección. Es una acción preventiva.

$$\text{Límite de Alerta Superior (2}\sigma\text{)} = \text{Media} + (2 \text{ Desviación Estándar})$$

#### *Nivel de acción a 3 sigmas (3σ)*

Es el límite de acción que distingue lo “aceptable” de lo “no aceptable”, si se sobrepasa puede afectar la inocuidad (producto no conforme). Es una acción correctiva.

$$\text{Límite de Acción Superior (3}\sigma\text{)} = \text{Media} + (3 \text{ Desviación Estándar})$$



Los valores límites pueden variar según el tipo de superficie y su función, y cada planta debe establecer los valores de referencia.

Así mismo se tuvo en cuenta la información de los datos históricos entregados por la empresa.

El criterio de aceptación que se aplicó para la detección de microorganismos patógenos en las distintas zonas y sus superficies, en este caso *Salmonella* y STEC, es ausencia.

### **6.7-Gráficos de control**

Si bien hay varios tipos de gráficos de control, para este trabajo con tipo de variable cuantitativa se hizo uso de los gráficos de control por variable con el software de hojas de cálculo Excel y el software estadístico InfoStat que permitieron monitorear y detectar cambios significativos en los datos microbiológicos.

### 7. RESULTADOS OBTENIDOS

Las Tablas 4, 5, 6 y 7, muestran los resultados microbiológicos (mesófilos aerobios y enterobacterias) y patógenos (*Salmonella* spp y STEC) correspondiente a las 4 zonas establecidas en el sector despostada durante el periodo de diciembre del 2023 - abril del 2024.

**Tabla 4. Resultados de los análisis realizados en las superficies correspondientes a la ZONA 1.**

Identificación	Fecha muestreo	Mesófilos Aerobios (UFC/cm <sup>2</sup> )	Enterobacterias (UFC/cm <sup>2</sup> )	Salmonella spp	STEC
Gancho de transferencia	04-12-23	0	0	-----	-----
	20-12-23	0	0	-----	-----
	17-01-24	3,8	0	-----	-----
	30-01-24	0	0	-----	-----
	14-02-24	19.2 *	0	-----	-----
	26-02-24	0,4	0	-----	-----
	13-03-24	0	0	-----	-----
	26-03-24	0	0	-----	-----
Tolva N° 2	04-12-23	0	0	-----	-----
Tolva N° 1	20-12-23	0	0	-----	-----
Tolva N° 3	17-01-24	0,3	0	-----	-----
Tolva N° 4	30-01-24	0,1	0	-----	-----
Tolva N° 1	14-02-24	0	0	-----	-----
Tolva N° 2	26-02-24	0,1	0	-----	-----
Tolva N° 3	13-03-24	7	0	-----	-----
Tolva N° 4	26-03-24	0	0	-----	-----
Batea y mesa de remanejo	04-12-23	0,1	0	-----	-----
	20-12-23	3,7	0	-----	-----
	17-01-24	1,1	0	-----	-----
	30-01-24	4	0	-----	-----
	14-02-24	0,3	0	-----	-----
	26-02-24	3	0	-----	-----
	13-03-24	30 *	0	-----	-----
	26-03-24	0	0	-----	-----
Bines	04-12-23	0	0	No detectado	No detectado
	20-12-23	0	0	No detectado	No detectado



	17-01-24	0	0	No detectado	No detectado
	30-01-24	0	0	No detectado	No detectado
	14-02-24	1	0	No detectado	No detectado
	26-02-24	2	0	No detectado	No detectado
	13-03-24	0	0	No detectado	No detectado
	26-03-24	0	0	No detectado	No detectado
Mesa de charqueo N°2	04-12-23	0	0	-----	-----
Mesa de charqueo N°1	20-12-23	0	0	-----	-----
Mesa de charqueo N°3	17-01-24	0	0	-----	-----
Mesa de charqueo N°4	30-01-24	0,3	0	-----	-----
Mesa de charqueo N°1	14-02-24	0,1	0	-----	-----
Mesa de charqueo N°2	26-02-24	0,3	0	-----	-----
Mesa de charqueo N°3	13-03-24	0,2	0	-----	-----
Mesa de charqueo N°4	26-03-24	0	0	-----	-----
Mesa de empaque primario N° 2 (cortes desnudos)	04-12-23	0	0	-----	-----
Mesa de empaque primario N° 1 (cortes desnudos)	20-12-23	0	0	-----	-----
Mesa de empaque primario N° 3 (cortes desnudos)	17-01-24	20 *	0	-----	-----



Mesa de empaque primario N° 4 (cortes desnudos)	20-12-23	<b>0,1</b>	<b>0</b>	-----	-----
Mesa de empaque primario N° 1 (cortes desnudos)	14-02-24	<b>0,1</b>	<b>0</b>	-----	-----
Mesa de empaque primario N° 2 (cortes desnudos)	26-02-24	<b>2</b>	<b>0</b>	-----	-----
Mesa de empaque primario N° 3 (cortes desnudos)	13-03-24	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
Mesa de empaque primario N° 4 (cortes desnudos)	26-03-24	<b>0,1</b>	<b>0</b>	-----	-----
Balanza Mesa N° 2	04-12-23	<b>0,1</b>	<b>0</b>	<b>No detectado</b>	<b>No detectado</b>
Balanza Mesa N° 1	20-12-23	<b>0,1</b>	<b>0</b>	<b>No detectado</b>	<b>No detectado</b>
Balanza Mesa N° 3	17-01-24	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>No detectado</b>	<b>No detectado</b>
Balanza Mesa N° 4	30-01-24	<b>0,1</b>	<b>0</b>	<b>No detectado</b>	<b>No detectado</b>
<b>Balanza Mesa N° 1</b>	<b>14-02-24</b>	<b>1</b>	<b>0,1 *</b>	<b>No detectado</b>	<b>No detectado</b>
Balanza Mesa N° 2	26-02-24	<b>0,4</b>	<b>0</b>	<b>No detectado</b>	<b>No detectado</b>
Balanza Mesa N° 3	13-03-24	<b>0,3</b>	<b>0</b>	<b>No detectado</b>	<b>No detectado</b>
Balanza Mesa N° 4	26-03-24	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>No detectado</b>	<b>No detectado</b>
Utensilio (cuchillo)	04-12-23	<b>0.7</b>	<b>0</b>	-----	-----
Utensilio (gancho de mano)	20-12-23	<b>1</b>	<b>0</b>	-----	-----



Utensilio (delantal)	17-01-24	0,1	0	-----	-----
Utensilio (cuchillo)	30-01-24	0	0	-----	-----
Utensilio (gancho de mano)	14-02-24	85,7 *	0	-----	-----
Utensilio (delantal)	26-02-24	1	0	-----	-----
Utensilio (cuchillo)	13-03-24	2	0	-----	-----
Utensilio (gancho de mano)	26-03-24	0	0	-----	-----
Mano	04-12-23	0,3	0	No detectado	No detectado
	20-12-23	9 *	0	No detectado	No detectado
	17-01-24	170 *	0	No detectado	No detectado
	30-01-24	0,5	0	No detectado	No detectado
	14-02-24	1	0	No detectado	No detectado
	26-02-24	3,9	0	No detectado	No detectado
	13-03-24	3,3	0	No detectado	No detectado
	26-03-24	20 *	0,1 *	No detectado	No detectado
Insumo - Etiqueta	04-12-23	0,1	0	-----	-----
Insumo - Bolsa de vacío	20-12-23	0,2	0	-----	-----
Insumo - Etiqueta	17-01-24	0	0	-----	-----
Insumo - Bolsa de vacío	30-01-24	0	0	-----	-----
Insumo - Etiqueta	14-02-24	1	0	-----	-----
Insumo - Bolsa de vacío	26-02-24	0,4	0	-----	-----
Insumo - Etiqueta	13-03-24	45 *	0,7 *	-----	-----
Insumo - Bolsa de vacío	26-03-24	0	0	-----	-----





Mesa PCC4	04-12-23	0,1	0	-----	-----
	20-12-23	0	0	-----	-----
	17-01-24	0,1	0,1 *	-----	-----
	30-01-24	2	0	-----	-----
	14-02-24	10 *	0	-----	-----
	26-02-24	60 *	0,4 *	-----	-----
	13-03-24	0,2	0	-----	-----
	26-03-24	0,2	0	-----	-----
Cinta despostador	04-12-23	0,1	0	-----	-----
	11-12-23	0	0	-----	-----
	20-12-23	2	0	-----	-----
	27-12-23	9 *	0,1 *	-----	-----
	17-01-24	4	0	-----	-----
	23-01-24	0,9	0	-----	-----
	30-01-24	0	0	-----	-----
	05-02-24	0	0	-----	-----
	14-02-24	1	0	-----	-----
	20-02-24	2	0	-----	-----
	26-02-24	150 *	0	-----	-----
	06-03-24	2	0	-----	-----
	13-03-24	0,1	0	-----	-----
	18-03-24	160 *	0,3 *	-----	-----
	26-03-24	0	0	-----	-----
08-04-24	160 *	1,8 *	-----	-----	
Cinta de huesos	04-12-23	0,1	0	-----	-----
	11-12-23	0,1	0	-----	-----
	20-12-23	0	0	-----	-----
	27-12-23	3,9	0,4 *	-----	-----
	17-01-24	3	0,1 *	-----	-----
	23-01-24	1	0	-----	-----
	30-01-24	2	0	-----	-----
	05-02-24	0,4	0	-----	-----
	14-02-24	9 *	2 *	-----	-----
	20-02-24	0,3	0	-----	-----
	26-02-24	60 *	0	-----	-----
	06-03-24	48,4 *	12 *	-----	-----
	13-03-24	0,6	0	-----	-----
	18-03-24	0,1	0	-----	-----
	26-03-24	0,1	0	-----	-----
08-04-24	220 *	0,9 *	-----	-----	

Cinta mesa de charqueo N° 2	04-12-23	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 1	11-12-23	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 3	20-12-23	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 4	27-12-23	<b>0,1</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 1	17-01-24	<b>12 *</b>	<b>0,2 *</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 2	23-01-24	<b>4</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 3	30-01-24	<b>0,1</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 4	05-02-24	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 1	14-02-24	<b>2</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 2	20-02-24	<b>1</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 3	26-02-24	<b>2</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 4	06-03-24	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 1	13-03-24	<b>0,2</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 2	18-03-24	<b>2</b>	<b>0</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 3	26-03-24	<b>6</b>	<b>0,9 *</b>	-----	-----
Cinta mesa de charqueo N° 4	08-04-24	<b>0,2</b>	<b>0</b>	-----	-----
Ganchos de noria	04-12-23	<b>0,2</b>	<b>0</b>	-----	-----
	11-12-23	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
	20-12-23	<b>14,1 *</b>	<b>0</b>	-----	-----
	27-12-23	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
	17-01-24	<b>2,4</b>	<b>0</b>	-----	-----
	23-01-24	<b>443,1 *</b>	<b>4 *</b>	-----	-----
	30-01-24	<b>4</b>	<b>0</b>	-----	-----
	05-02-24	<b>18,1</b>	<b>0</b>	-----	-----
	14-02-24	<b>20,1</b>	<b>0</b>	-----	-----
	20-02-24	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
	26-02-24	<b>4</b>	<b>0</b>	-----	-----
06-03-24	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----	



	13-03-24	0,4	0	-----	-----
	18-03-24	6	0	-----	-----
	26-03-24	0,4	0	-----	-----
	08-04-24	1470,3 *	22,2 *	-----	-----

\* = Datos atípicos

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 5. Resultados de los análisis realizados en las superficies correspondientes a la ZONA 2.**

Identificación	Fecha muestreo	Mesófilos Aerobios (UFC/cm <sup>2</sup> )	Enterobacterias (UFC/cm <sup>2</sup> )	Salmonella spp	STEC
Super Vac N° 4	04-12-23	43 *	0	No detectado	No detectado
Super Vac N° 1	20-12-23	0	0	No detectado	No detectado
Super Vac N° 2	17-01-24	560 *	0	No detectado	No detectado
Super Vac N° 3	30-01-24	7	0	No detectado	No detectado
Super Vac N° 4	14-02-24	20 *	0	No detectado	No detectado
Super Vac N° 1	26-02-24	30 *	0,2 *	No detectado	No detectado
Super Vac N° 2	13-03-24	67 *	0	No detectado	No detectado
Super Vac N° 3	26-03-24	60 *	0	No detectado	No detectado
Bandeja protectora de pasarela	04-12-23	0	0	-----	-----
	20-12-23	0	0	-----	-----
	17-01-24	1	0	-----	-----
	30-01-24	2,5	0	-----	-----
	14-02-24	220 *	0	-----	-----
	26-02-24	1	0	-----	-----
	13-03-24	0	0	-----	-----
	26-03-24	0,2	0	-----	-----
Motorola Mesa N° 2	04-12-23	37 *	0	No detectado	No detectado
Motorola Mesa N° 1	20-12-23	0	0	No detectado	No detectado
Motorola Mesa N° 3	17-01-24	0,2	0	No detectado	No detectado



Motorola Mesa N° 4	30-01-24	1	0	No detectado	No detectado
Motorola Mesa N° 1	14-02-24	1	0	No detectado	No detectado
Motorola Mesa N° 2	26-02-24	4,5	0	No detectado	No detectado
Motorola Mesa N° 3	13-03-24	2	0	No detectado	No detectado
Motorola Mesa N° 4	26-03-24	0	0	No detectado	No detectado
Cadena de noria	04-12-23	0	0	No detectado	No detectado
	20-12-23	0	0	No detectado	No detectado
	17-01-24	12,4 *	0	No detectado	No detectado
	30-01-24	32 *	0	No detectado	No detectado
	14-02-24	4	0	No detectado	No detectado
	26-02-24	1,6	0	No detectado	No detectado
	13-03-24	240 *	6 *	No detectado	No detectado
	26-03-24	172 *	0	No detectado	No detectado
Cinta transferencia empaque primario	04-12-23	0,1	0	No detectado	No detectado
	11-12-23	0,1	0	No detectado	No detectado
	20-12-23	0,3	0	No detectado	No detectado
	27-12-23	0	0	No detectado	No detectado
	17-01-24	440 *	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	30-01-24	6	0	No detectado	No detectado
	05-02-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	14-02-24	40 *	0	No detectado	No detectado

	20-02-24	1	0	No detectado	No detectado
	26-02-24	0,4	0	No detectado	No detectado
	06-03-24	14 *	0	No detectado	No detectado
	13-03-24	20 *	0	No detectado	No detectado
	18-03-24	2,1	0	No detectado	No detectado
	26-03-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	08-04-24	0,3	0	No detectado	No detectado
Manga de aire	04-12-23	0	0	-----	-----
	11-12-23	0	0	-----	-----
	20-12-23	0,1	0	-----	-----
	27-12-23	0	0	-----	-----
	17-01-24	8,2 *	0	-----	-----
	23-01-24	2	0	-----	-----
	30-01-24	0	0	-----	-----
	05-02-24	0	0	-----	-----
	14-02-24	0,1	0	-----	-----
	20-02-24	0,1	0	-----	-----
	26-02-24	1	0	-----	-----
	06-03-24	3	0	-----	-----
	13-03-24	0,2	0	-----	-----
	18-03-24	0,3	0	-----	-----
	26-03-24	0,1	0	-----	-----
08-04-24	4	0	-----	-----	
Tuberías de agua	04-12-23	0	0	-----	-----
	11-12-23	0	0	-----	-----
	20-12-23	0,4	0	-----	-----
	27-12-23	0	0	-----	-----
	17-01-24	0	0	-----	-----
	23-01-24	0,4	0	-----	-----
	30-01-24	0	0	-----	-----
	05-02-24	0,4	0	-----	-----
	14-02-24	0,4	0	-----	-----
	20-02-24	0,8	0	-----	-----
	26-02-24	0	0	-----	-----
	06-03-24	0,8	0	-----	-----



	13-03-24	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
	18-03-24	<b>1,2</b>	<b>0</b>	-----	-----
	26-03-24	<b>0,8</b>	<b>0</b>	-----	-----
	08-04-24	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 2	04-12-23	<b>0,5</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 1	11-12-23	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 3	20-12-23	<b>0</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 4	27-12-23	<b>0,5</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 1	17-01-24	<b>0,5</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 2	23-01-24	<b>23,8 *</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 3	30-01-24	<b>21,4 *</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 4	05-02-24	<b>2,1</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 1	14-02-24	<b>47,6 *</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 2	20-02-24	<b>3,6</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 3	26-02-24	<b>9,5 *</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 4	06-03-24	<b>4,8</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 1	13-03-24	<b>0,2</b>	<b>0</b>	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 2	18-03-24	<b>14,3 *</b>	<b>0</b>	-----	-----

Rodillo cinta mesa de charqueo N° 3	26-03-24	9,5 *	1,7 *	-----	-----
Rodillo cinta mesa de charqueo N° 4	08-04-24	0,5	0	-----	-----
Cinta de remanejo	04-12-23	0	0	-----	-----
	11-12-23	0,7	0,1 *	-----	-----
	20-12-23	2,5	0	-----	-----
	27-12-23	1	0	-----	-----
	17-01-24	0	0	-----	-----
	23-01-24	0	0	-----	-----
	30-01-24	0	0	-----	-----
	05-02-24	0,2	0	-----	-----
	14-02-24	2	0	-----	-----
	20-02-24	0,1	0	-----	-----
	26-02-24	3	0	-----	-----
	06-03-24	1	0	-----	-----
	13-03-24	0	0	-----	-----
	18-03-24	0,3	0	-----	-----
26-03-24	0	0	-----	-----	
08-04-24	0,7	0	-----	-----	
Bandeja colectoras Mesa N° 1	11-12-23	2	0	No detectado	No detectado
Bandeja colectoras Mesa N° 2	05-02-24	0,1	0	No detectado	No detectado
Bandeja colectoras Mesa N° 3	06-03-24	3	0	No detectado	No detectado
Bandeja colectoras Mesa N° 4	08-04-24	530 *	0	No detectado	No detectado
Porta etiquetas Mesa N° 2	11-12-23	0	0	No detectado	No detectado
Porta etiquetas Mesa N° 4	05-02-24	5	0	No detectado	No detectado
Porta etiquetas Mesa N° 2	06-03-24	0	0	No detectado	No detectado
Porta etiquetas Mesa N° 4	08-04-24	4	0	No detectado	No detectado

Mesa empaque primario N° 1 (cortes embolsados)	11-12-23	0	0	No detectado	No detectado
Mesa empaque primario N° 2 (cortes embolsados)	05-02-24	0,1	0	No detectado	No detectado
Mesa empaque primario N° 3 (cortes embolsados)	06-03-24	0,1	0	No detectado	No detectado
Mesa empaque primario N° 1 (cortes embolsados)	08-04-24	0,1	0	No detectado	No detectado
Mesa peladero de huesos	11-12-23	0	0	No detectado	No detectado
	05-02-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	06-03-24	0	0	No detectado	No detectado
	08-04-24	0,1	0	No detectado	No detectado
Palco	11-12-23	0,1	0	No detectado	No detectado
	05-02-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	06-03-24	0,2	0	No detectado	No detectado
	08-04-24	0	0	No detectado	No detectado

\* = Datos atípicos

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 6. Resultados de los análisis realizados en las superficies correspondientes a la ZONA 3.**

Identificación	Fecha muestreo	Mesófilos Aerobios (UFC/cm <sup>2</sup> )	Enterobacterias (UFC/cm <sup>2</sup> )	Salmonella spp	STEC
Desagües	04-12-23	1240 *	2,4 *	No detectado	No detectado
	20-12-23	0,3	0	No detectado	No detectado





	17-01-24	420 *	1 *	No detectado	No detectado
	30-01-24	0,2	0	No detectado	No detectado
	14-02-24	6 *	4 *	No detectado	No detectado
	26-02-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	13-03-24	1750 *	54 *	Presencia	No detectado
	26-03-24	1	0	No detectado	No detectado
Cinta de transporte empaque secundario	04-12-23	0,3	0	No detectado	No detectado
	11-12-23	0,2	0	No detectado	No detectado
	20-12-23	0,4	0	No detectado	No detectado
	27-12-23	0	0	No detectado	No detectado
	17-01-24	2	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	1	0	No detectado	No detectado
	30-01-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	05-02-24	0	0	No detectado	No detectado
	14-02-24	1	0	No detectado	No detectado
	20-02-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	26-02-24	2	0	No detectado	No detectado
	06-03-24	0	0	No detectado	No detectado
	13-03-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	18-03-24	0,2	0	No detectado	No detectado
	26-03-24	0	0	No detectado	No detectado
08-04-24	0,2	0	No detectado	No detectado	



Canasto	11-12-23	0,7	0	No detectado	No detectado
	05-02-24	0,3	0	No detectado	No detectado
	06-03-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	08-04-24	3 *	0	No detectado	No detectado
Depósito de cartones	11-12-23	1,7	0	-----	-----
	23-01-24	1	0	-----	-----
	20-02-24	1	0	-----	-----
	18-03-24	0,3	0	-----	-----
Balanza empaque secundario	11-12-23	0,3	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	1	0	No detectado	No detectado
	20-02-24	0	0	No detectado	No detectado
	18-03-24	0,1	0	No detectado	No detectado
Sala de etiquetas	11-12-23	0	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	1	0	No detectado	No detectado
	20-02-24	0	0	No detectado	No detectado
	18-03-24	0,4	0	No detectado	No detectado
Defensa de columnas	11-12-23	0,1	0	-----	-----
	23-01-24	1,8	0	-----	-----
	20-02-24	0	0	-----	-----
	18-03-24	0,9	0	-----	-----
Paredes	11-12-23	0	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	3 *	0	No detectado	No detectado
	20-02-24	0,1	0	No detectado	No detectado
	18-03-24	0,1	0	No detectado	No detectado

\* = Datos atípicos

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 7. Resultados de los análisis realizados en las superficies correspondientes a la ZONA 4.**

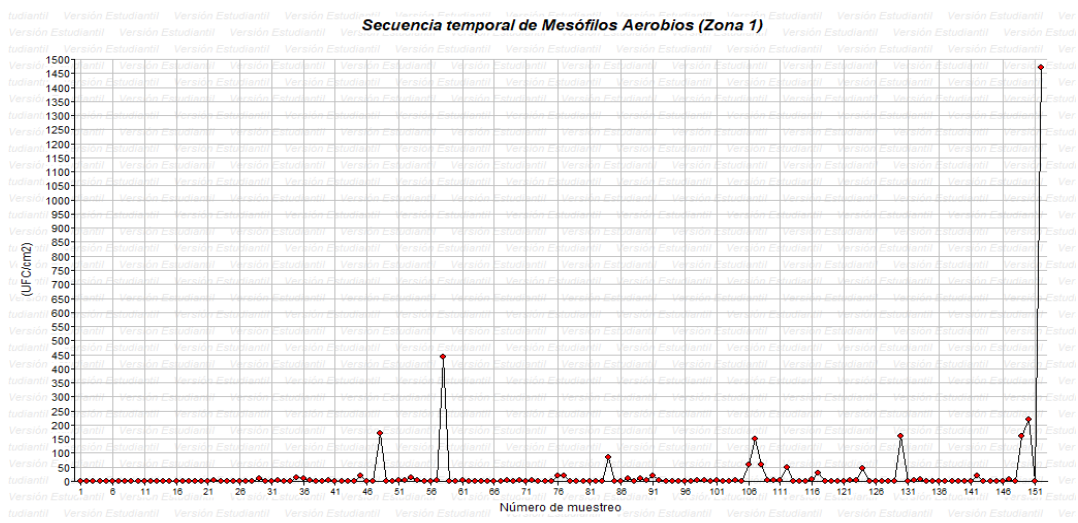
Identificación	Fecha muestreo	Mesófilos Aerobios (UFC/cm <sup>2</sup> )	Enterobacterias (UFC/cm <sup>2</sup> )	Salmonella spp	STEC
Área de descanso	11-12-23	1,6	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	10 *	0	No detectado	No detectado
	20-02-24	2	0	No detectado	No detectado
	18-03-24	7	0	No detectado	No detectado
Vestuario	11-12-23	2,4	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	2	0	No detectado	No detectado
	20-02-24	6	0	No detectado	No detectado
	18-03-24	0,7	0	No detectado	No detectado
Filtro sanitario	11-12-23	0,1	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	11 *	0	No detectado	No detectado
	20-02-24	20 *	0	No detectado	No detectado
	18-03-24	0	0	No detectado	No detectado
Depósito de utensilios y delantales	11-12-23	0,3	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	4	0	No detectado	No detectado
	20-02-24	2	0	No detectado	No detectado
	18-03-24	0,1	0	No detectado	No detectado
Sector lavadelantales	11-12-23	0	0	No detectado	No detectado
	23-01-24	0	0	No detectado	No detectado
	20-02-24	0,3	0	No detectado	No detectado

	18-03-24	1,3	0	<b>No detectado</b>	<b>No detectado</b>
--	----------	-----	---	---------------------	---------------------

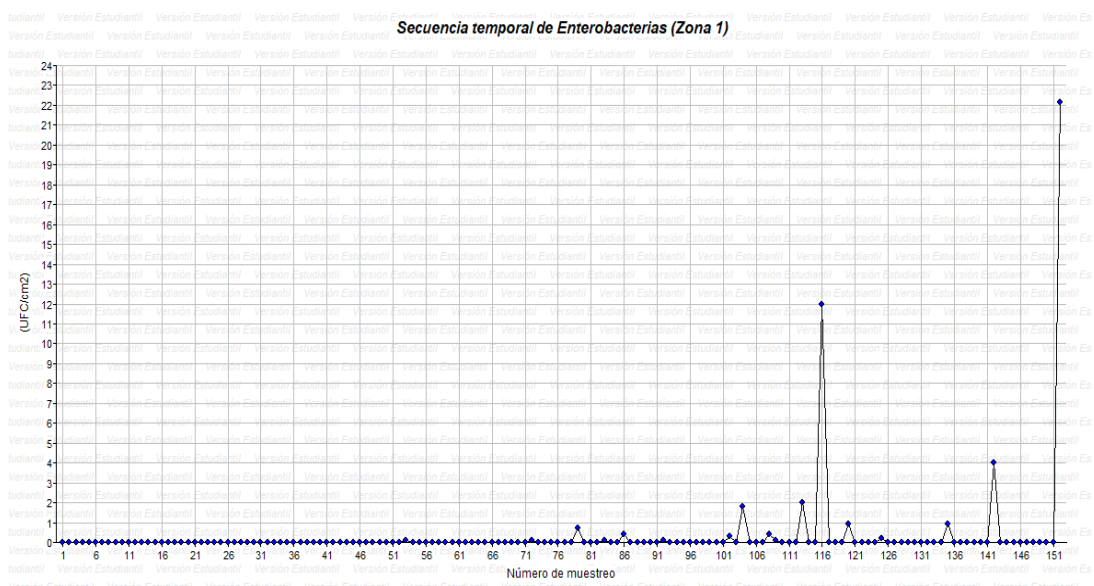
\* = Datos atípicos  
Fuente: Elaboración propia

En las siguientes graficas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 y 16, se observa la representación total de los datos de los análisis realizados en las superficies de cada una de las zonas estudiadas durante el periodo de diciembre del 2023 - abril del 2024.

**Gráfica 1. Gráfico de secuencia temporal correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm<sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 1.**

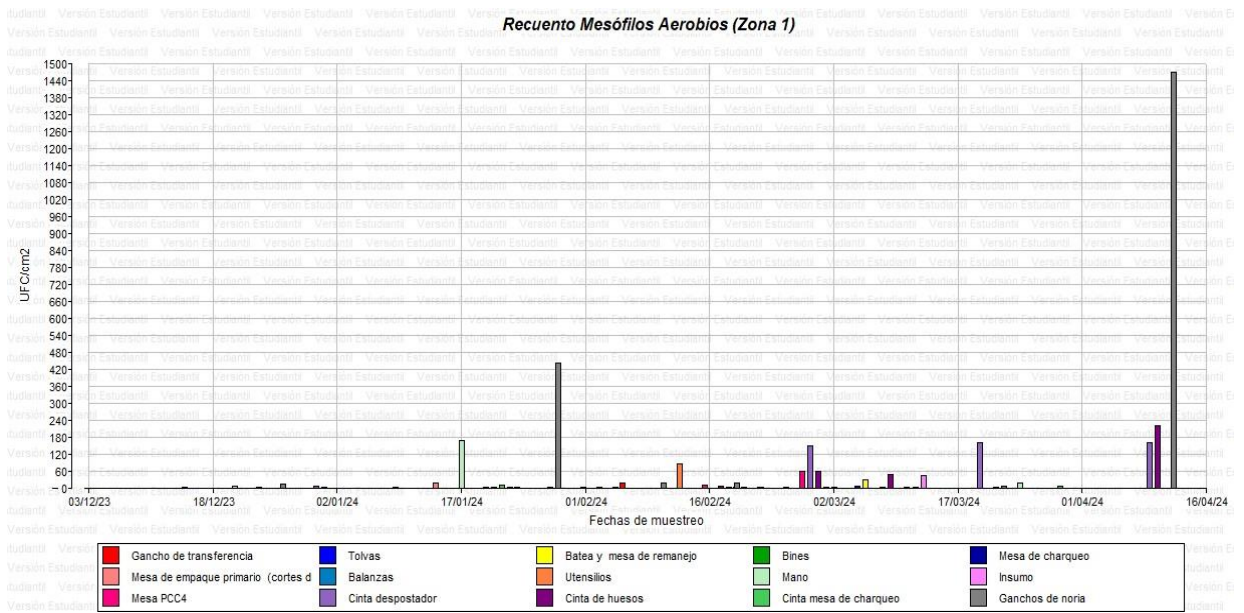


Fuente: Elaboración propia

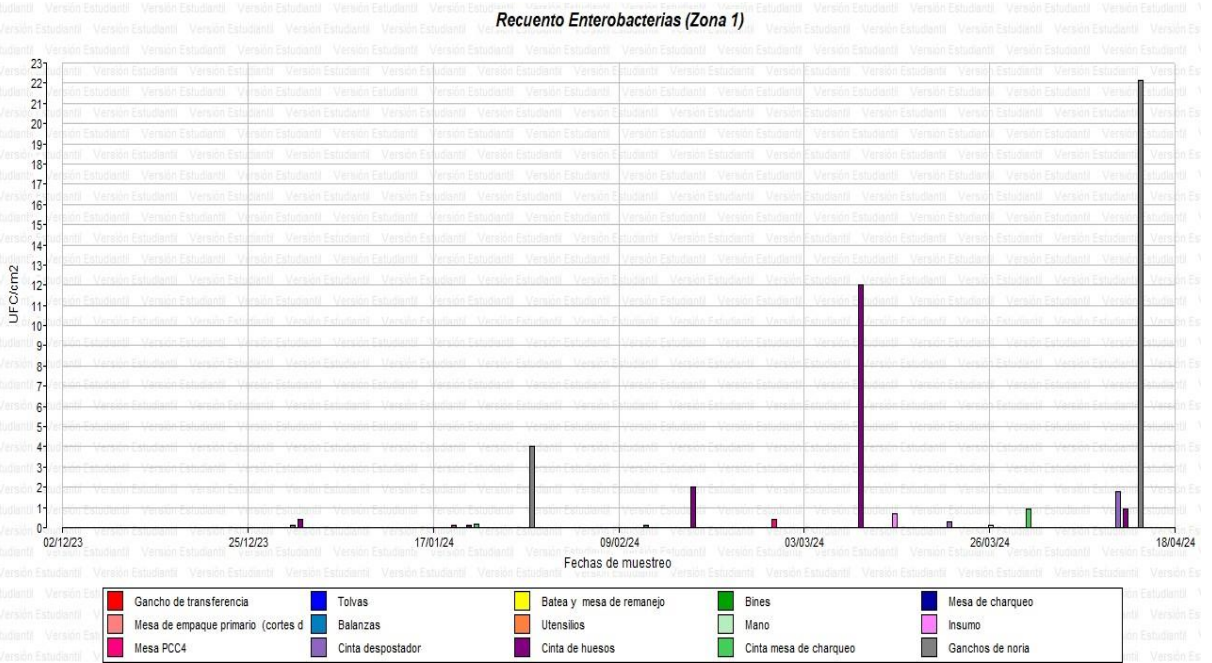


Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 2. Gráfico de resultados correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm<sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 1.**

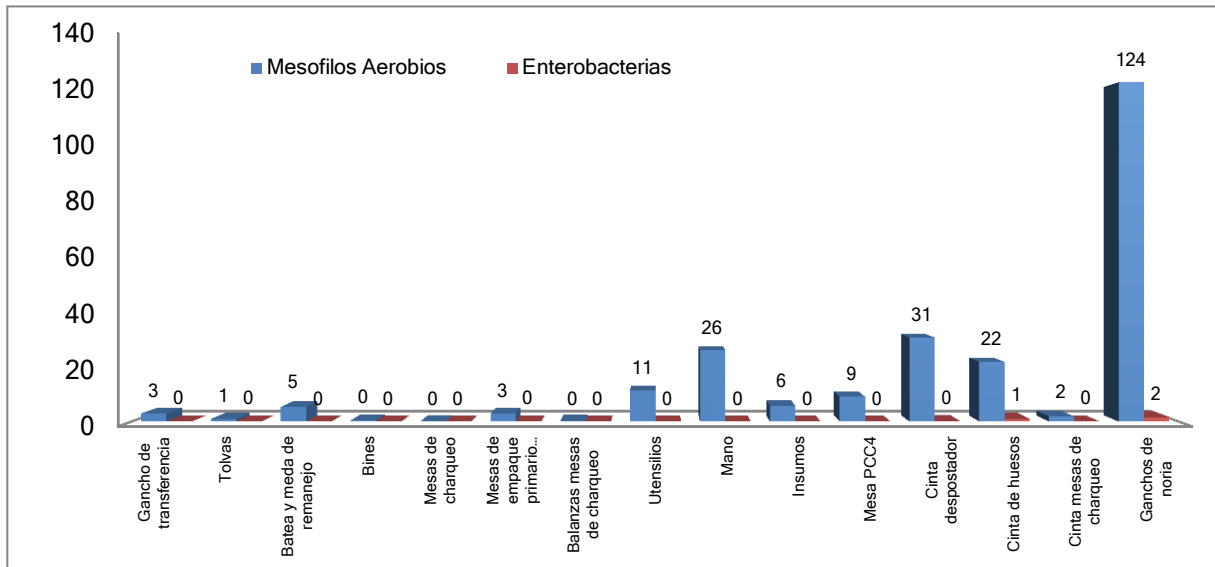


Fuente: Elaboración propia



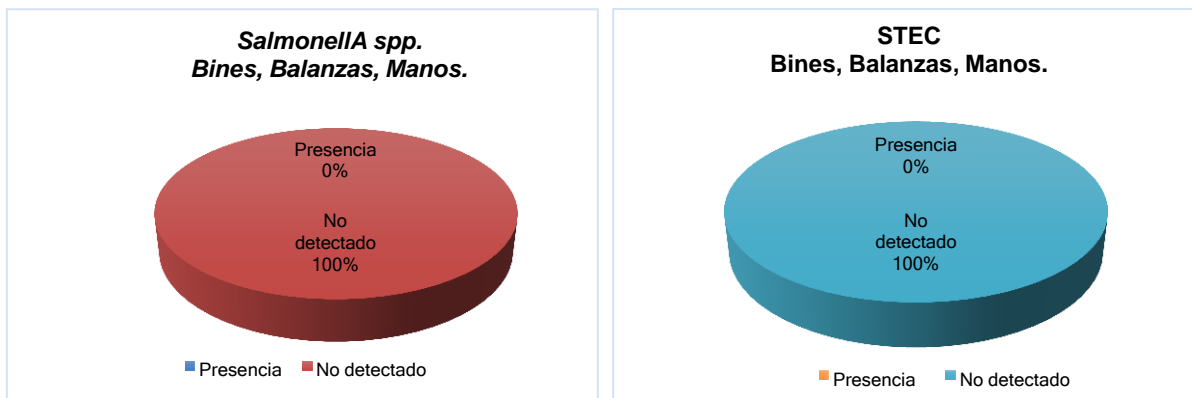
Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 3. Comparación de las medias en UFC/cm2 de los análisis microbiológicos correspondientes a las superficies de la ZONA 1.**



Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 4. Distribución porcentual para *Salmonella* spp y STEC correspondientes a las superficies de la ZONA 1.**



Fuente: Elaboración propia

Análisis de resultados:

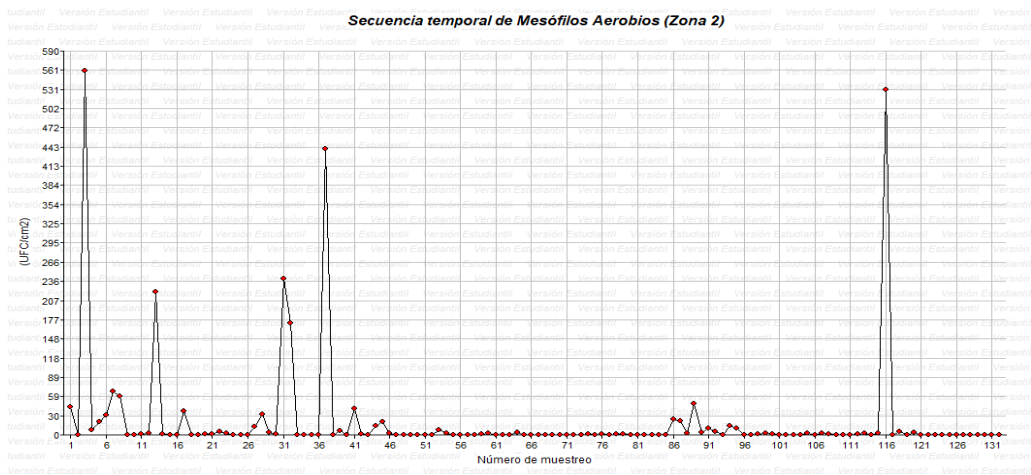
En el análisis de la **Gráfica 1**, se pudo observar una variabilidad en los resultados obtenidos en el recuento de microorganismos mesófilos aerobios y enterobacterias durante los cuatro meses de muestreo. Al realizar la detección de datos atípicos (ver Tabla 8), se encontró que el 15.78% de las muestras para mesófilos aerobios y 11.18% para enterobacterias están por

encima del máximo establecido en el diagrama de caja y bigote.

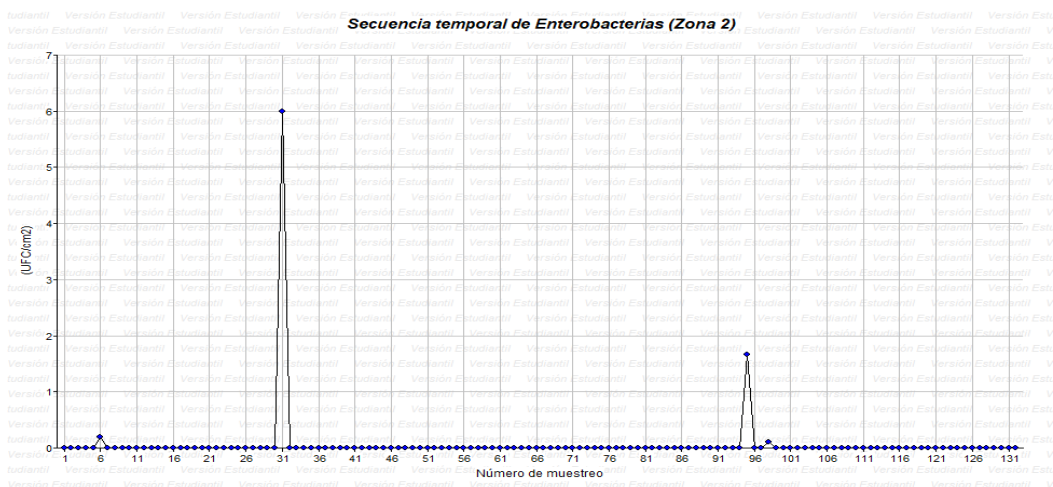
De las **Gráficas 2 y 3** se puede ver que del total de las muestras analizadas en la Zona 1, las que presentaron mayor conteo de UFC/cm<sup>2</sup> de bacterias mesófilas aerobias fueron los ganchos de la noria, siguiéndole la cinta de despostador, cinta de huesos, manos de operarios y utensilios. En cuanto a enterobacterias, se encontró que las únicas que mostraron crecimiento de colonias fueron el gancho de noria y la cinta de huesos.

En el **Gráfico 4** se puede ver que, de las 24 muestras tomadas y analizadas en este estudio, el resultado fue **“No detectado”** para el 100% de los microorganismos patógenos buscados.

**Gráfica 5. Gráfico de secuencia temporal correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm<sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 2.**

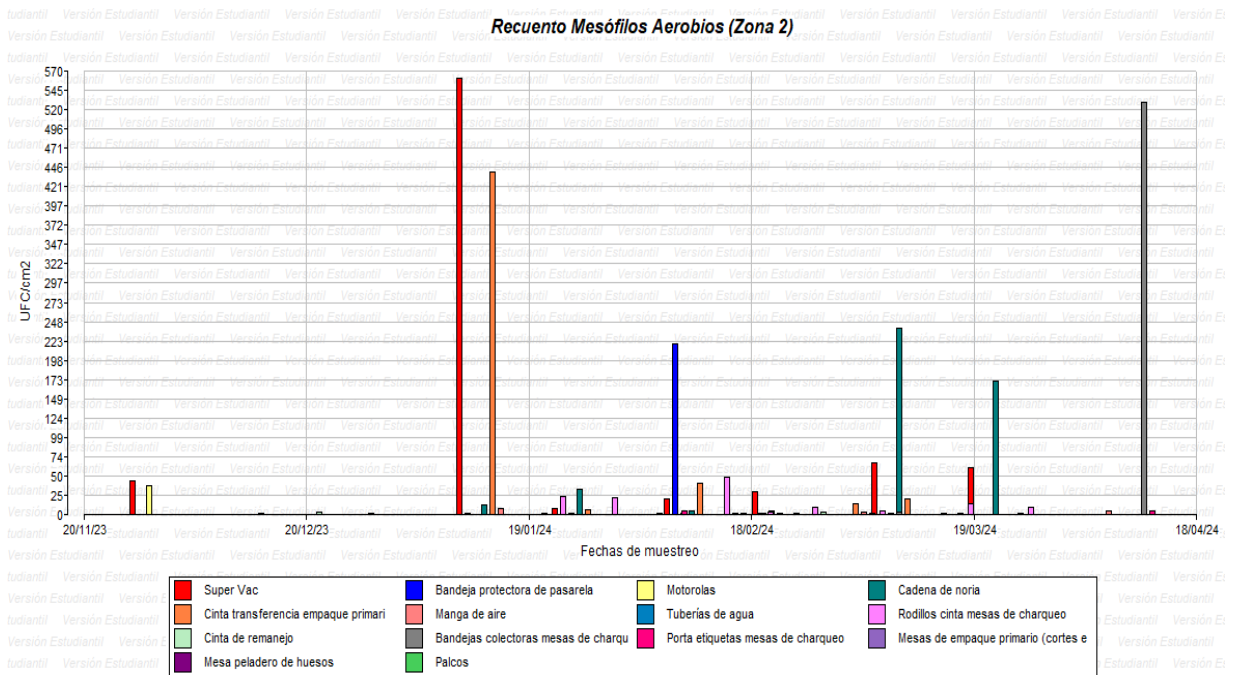


Fuente: Elaboración propia

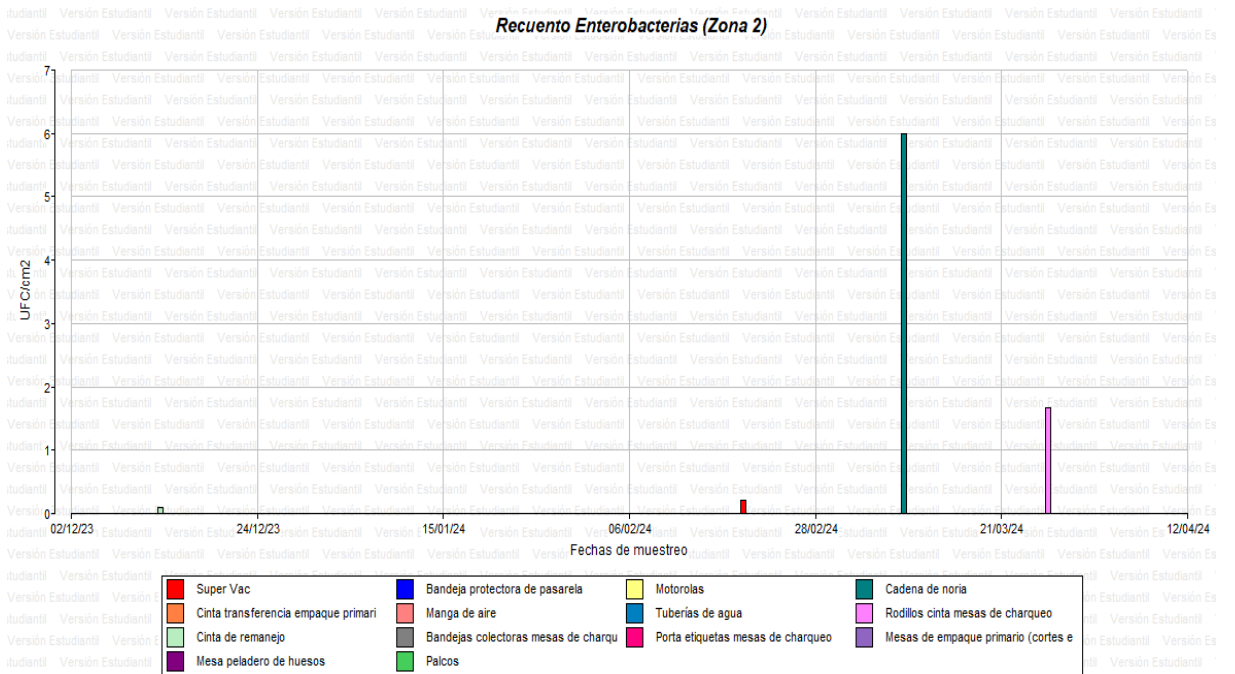


Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 6. Gráfico de resultados correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm<sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 2.**



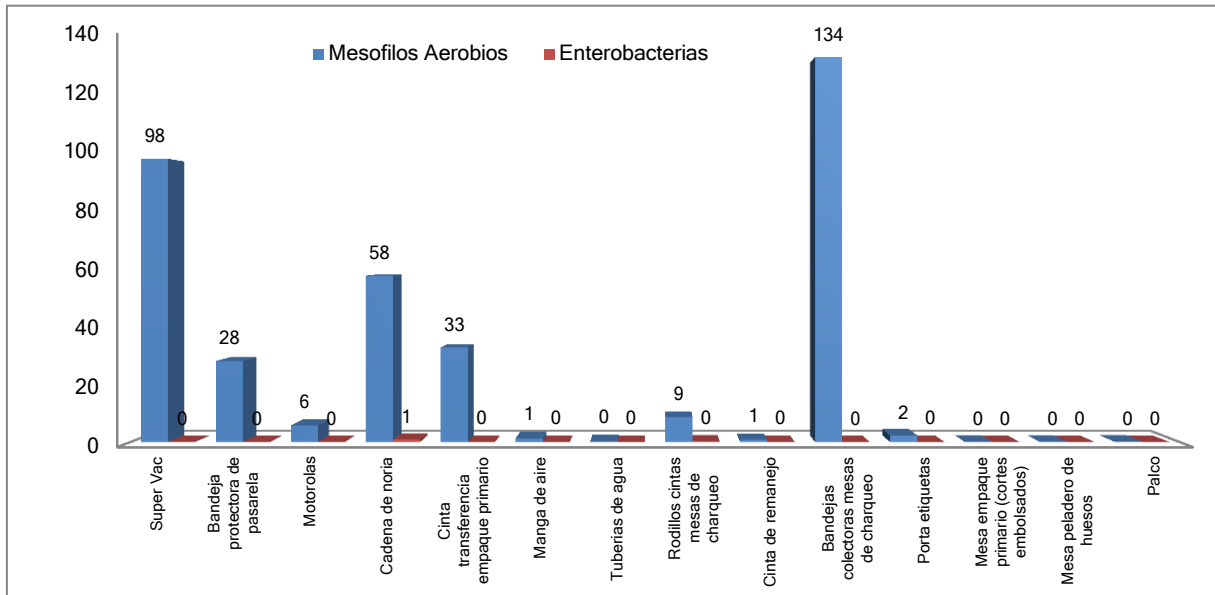
Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

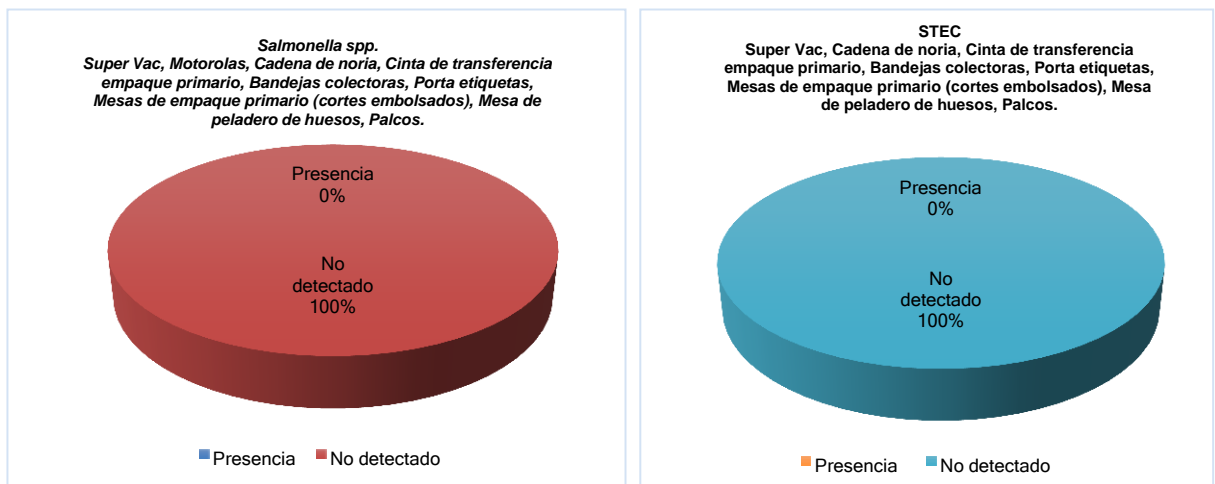


**Gráfica 7. Comparación de las medias en UFC/cm<sup>2</sup> de los análisis microbiológicos correspondientes a las superficies de la ZONA 2.**



Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 8. Distribución porcentual para *Salmonella* spp y STEC correspondientes a las superficies de la ZONA 2.**



Fuente: Elaboración propia

Análisis de resultados:

Podemos observar en la **Gráfica 5** que, del total de las muestras tomadas durante los cuatro

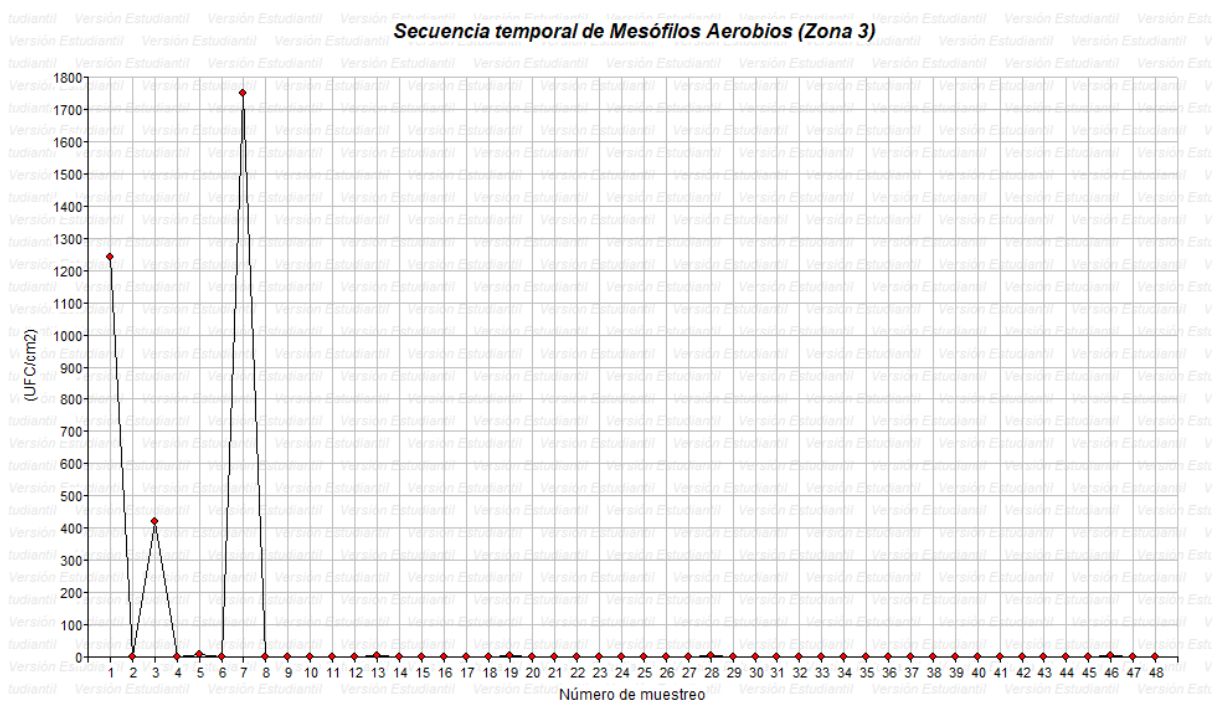
meses de muestreo, las primeras 44 presentaron resultados más variables en el recuento de microorganismos mesófilos aerobios. Desde la muestra N° 45 hasta la N° 132, con excepción de la N° 116, los datos se mantuvieron con menos dispersiones. En contraposición, en el recuento de enterobacterias los resultados fueron más uniformes, mostrando solamente crecimiento en 4 muestras (N° 6, 31, 95 y 98).

Al realizar la detección de datos atípicos (ver Tabla 8), se encontró que el 18.18% de las muestras para mesófilos aerobios y 3.03% para enterobacterias están por encima del máximo establecido en el diagrama de caja y bigote.

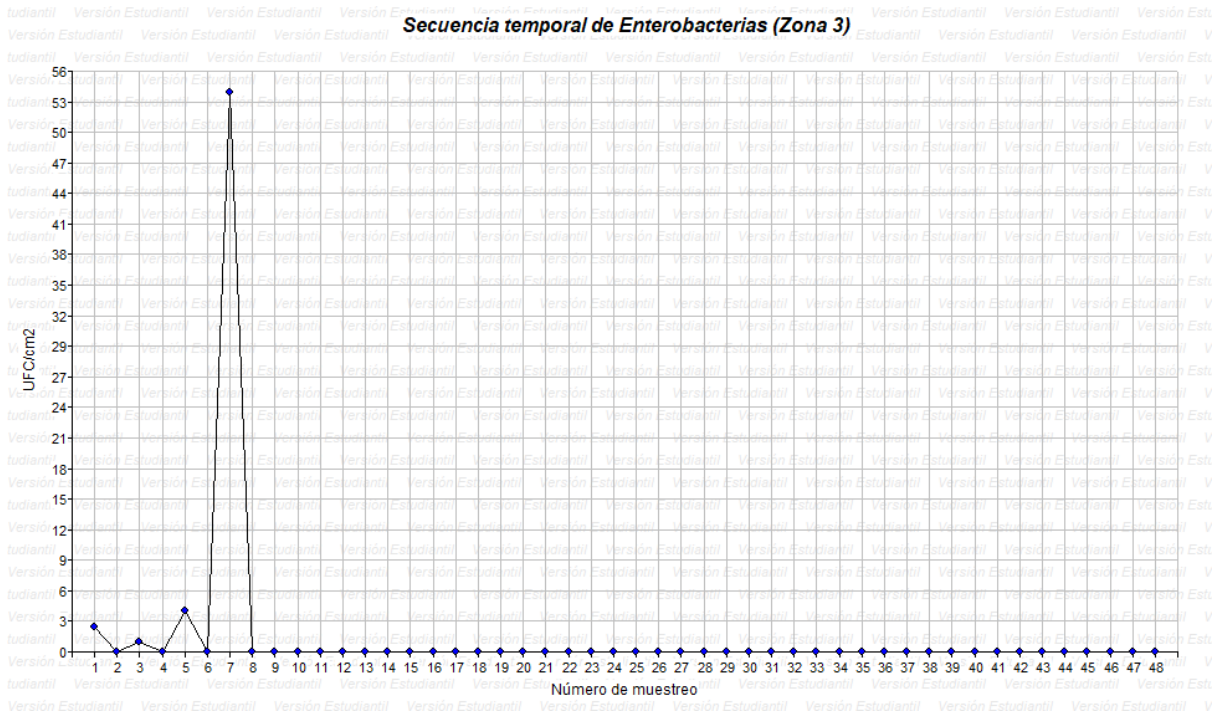
De las **Gráficas 6 y 7** se puede ver que del total de las muestras analizadas en la Zona 2, las que presentaron mayor conteo de UFC/cm<sup>2</sup> de bacterias mesófilas aerobias fueron las bandejas colectoras de las mesas de charqueo, siguiéndole las Super Vac, la cadena de noria, cinta de transferencia de empaque primario y bandeja protectora de pasarela. En cuanto a enterobacterias, se encontró que la única que mostro crecimiento de colonias fue la cadena de noria.

En el **Gráfico 8** se logra ver que, de las 60 muestras tomadas y analizadas en este estudio, el resultado fue **“No detectado”** para el 100% de los microorganismos patógenos buscados.

**Gráfica 9. Gráfico de secuencia temporal correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm<sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 3.**

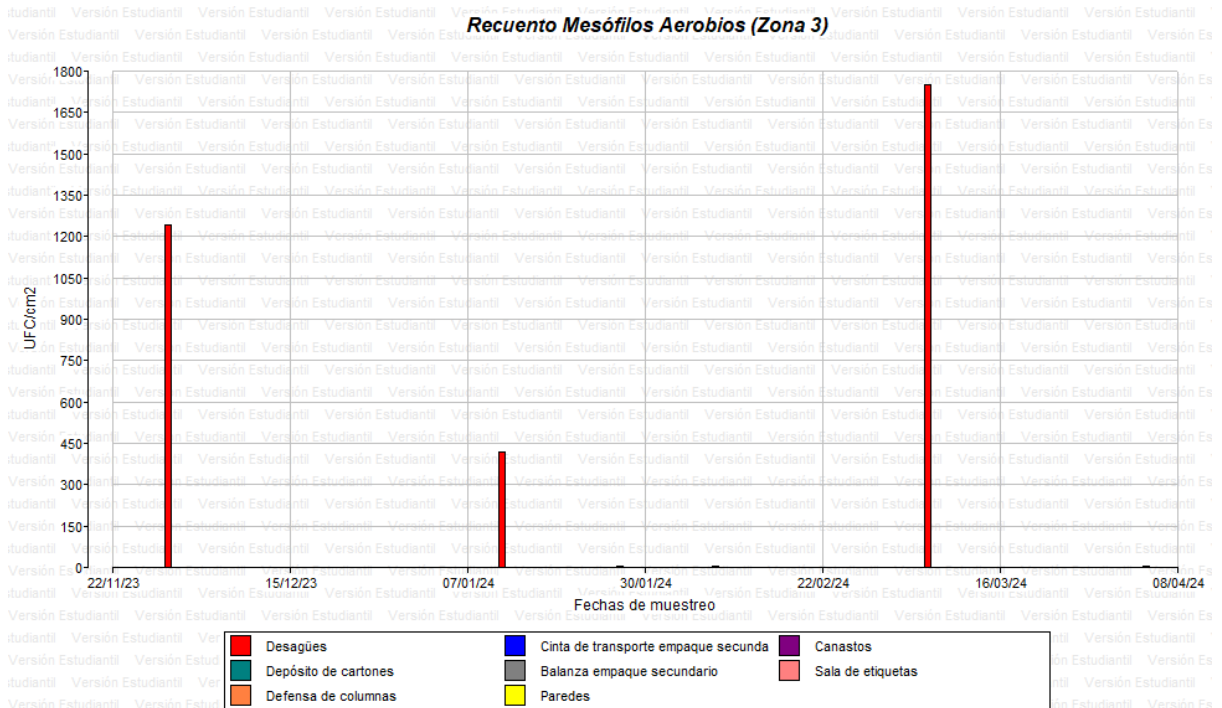


Fuente: Elaboración propia

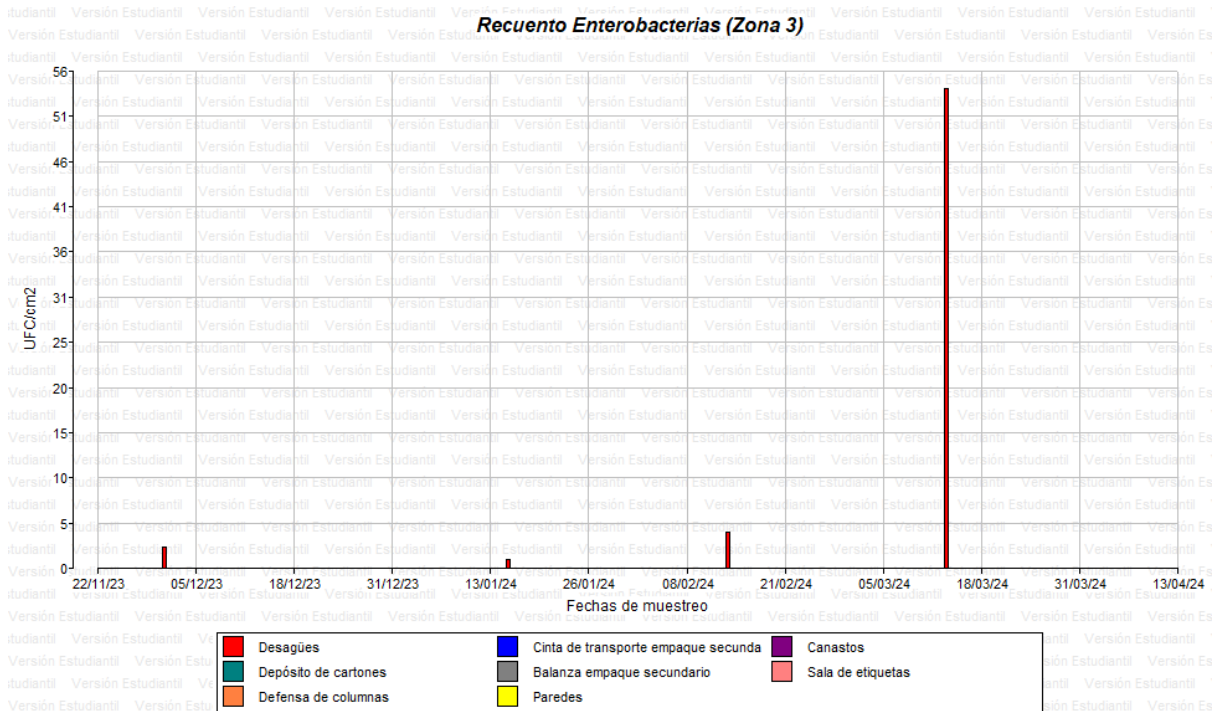


Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 10. Gráfico de resultados correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm<sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 3.**

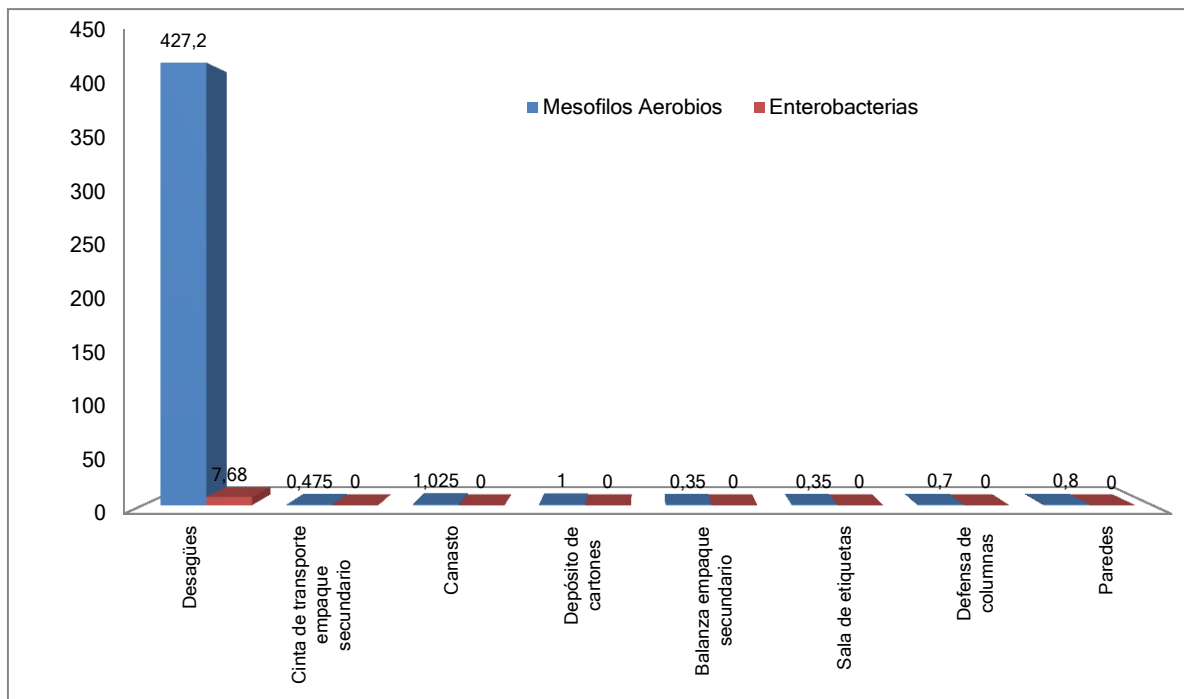


Fuente: Elaboración propia



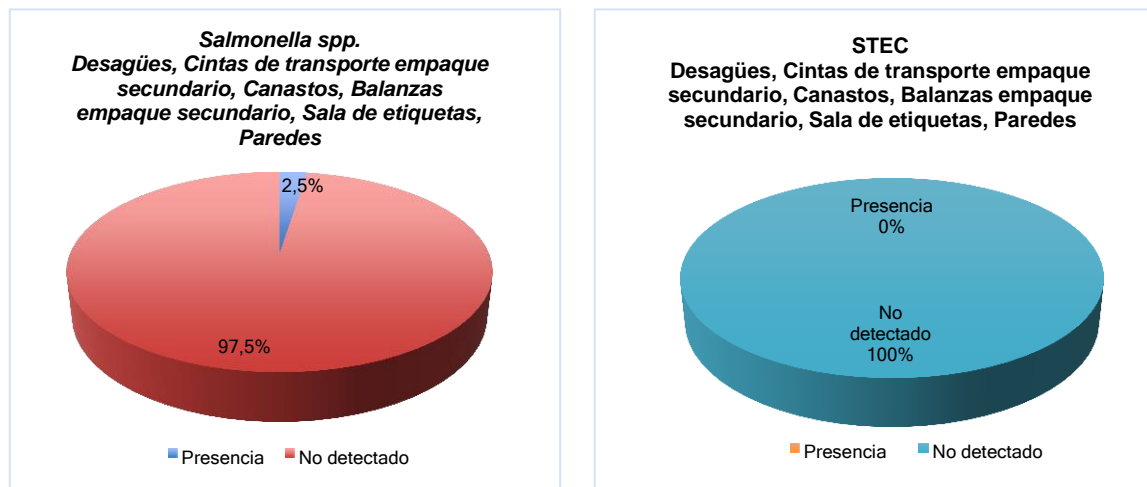
Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 11. Comparación de las medias en UFC/cm<sup>2</sup> de los análisis microbiológicos correspondientes a las superficies de la ZONA 3.**



Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 12. Distribución porcentual para *Salmonella* spp y STEC correspondientes a las superficies de la ZONA 3.**



Fuente: Elaboración propia

Análisis de resultados:

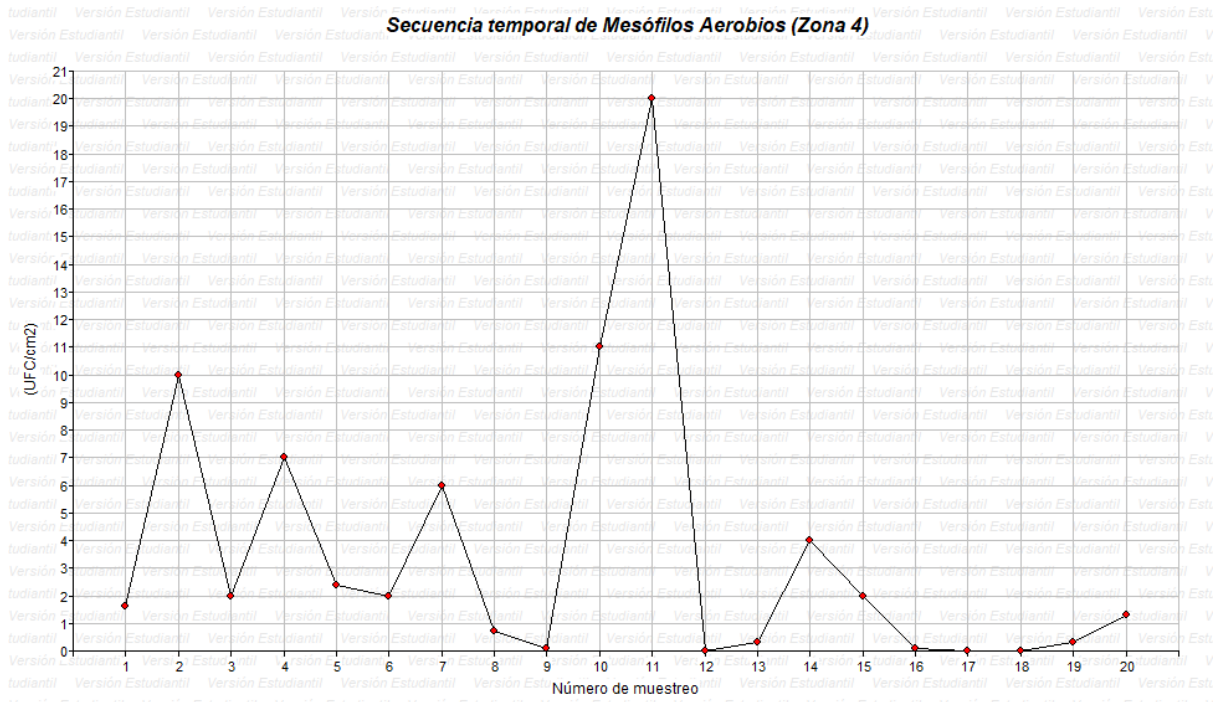
En la **Gráfica 9** se observó que, del total de 48 muestras tomadas solamente las 8 primeras presentaron resultados dispersos en el recuento de microorganismos mesófilos aerobios y enterobacterias. Luego en los siguientes días el crecimiento de colonias de ambos microorganismos disminuyó considerablemente tendiendo a una uniformidad.

Al realizar la detección de datos atípicos (ver Tabla 8), se encontró que el 12.5% de las muestras para mesófilos aerobios y 8.33% para enterobacterias están por encima del máximo establecido en el diagrama de caja y bigote.

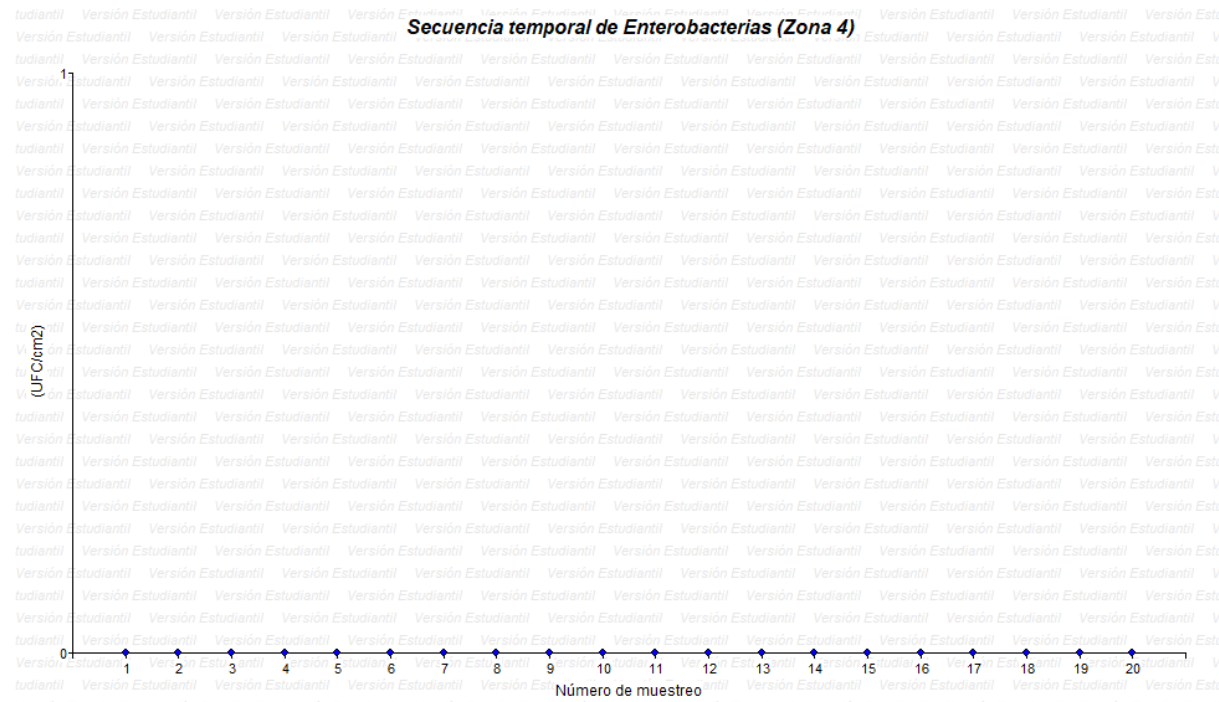
En las **Gráficas 10 y 11** se puede ver que, del total de las muestras analizadas en la Zona 3, las que presentaron mayor conteo de UFC/cm<sup>2</sup> de bacterias mesófilas aerobias y enterobacterias fueron los desagües.

La **Gráfica 12** evidenció que, de las 40 muestras tomadas y analizadas, el resultado fue “**No detectado**” para el 100% en STEC, mientras que para salmonella el 2.5% dio “**Presencia**” y el 97.5% fue “**No detectado**”.

**Gráfica 13. Gráfico de secuencia temporal correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm<sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 4.**

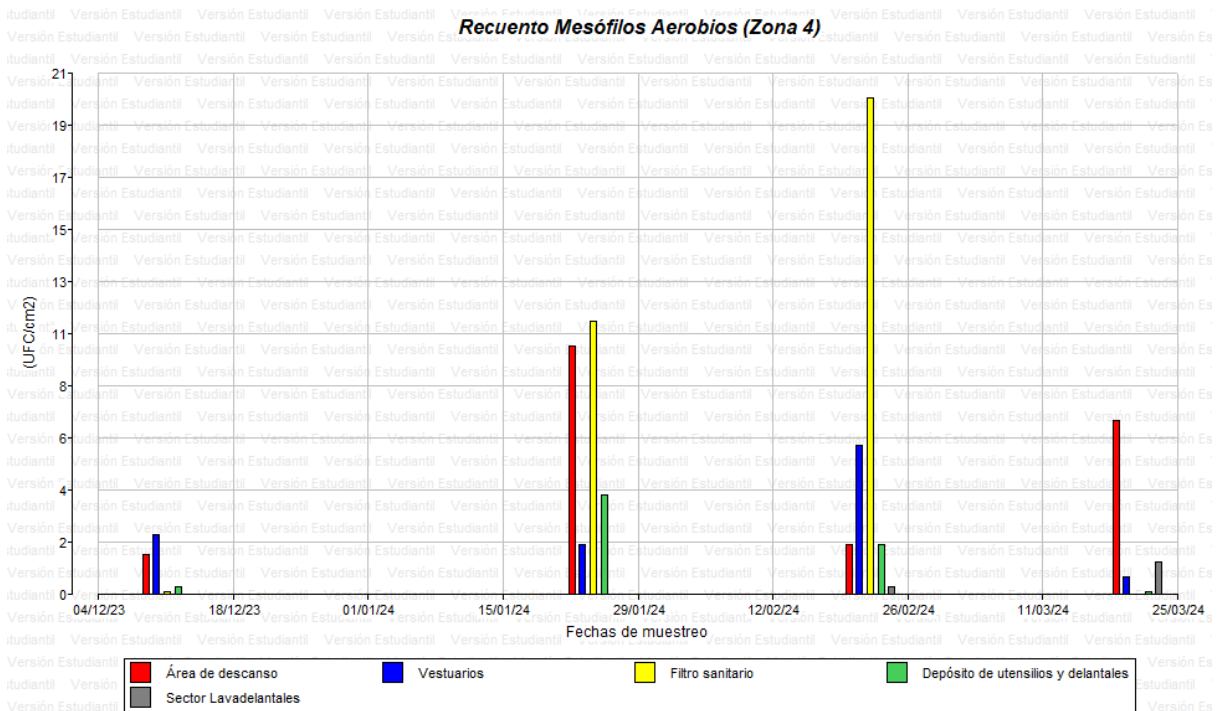


Fuente: Elaboración propia

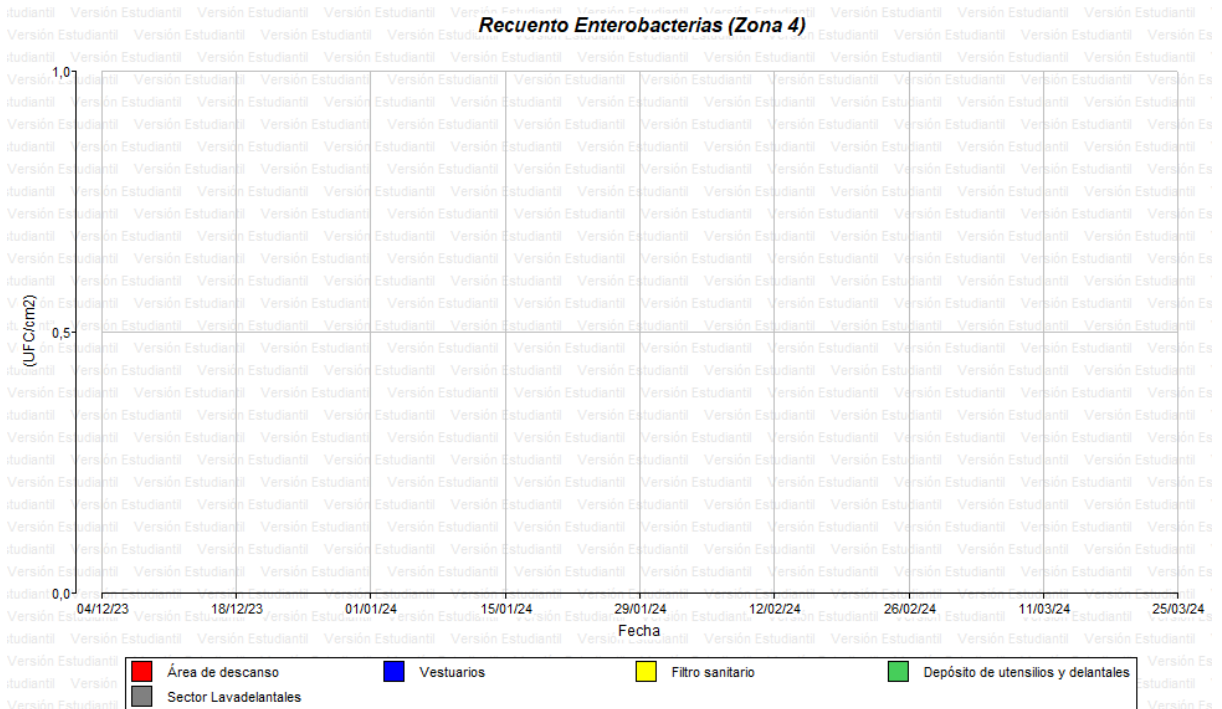


Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 14. Gráfico de resultados correspondiente a los análisis microbiológicos expresados en UFC/cm<sup>2</sup> de las superficies de la ZONA 4.**

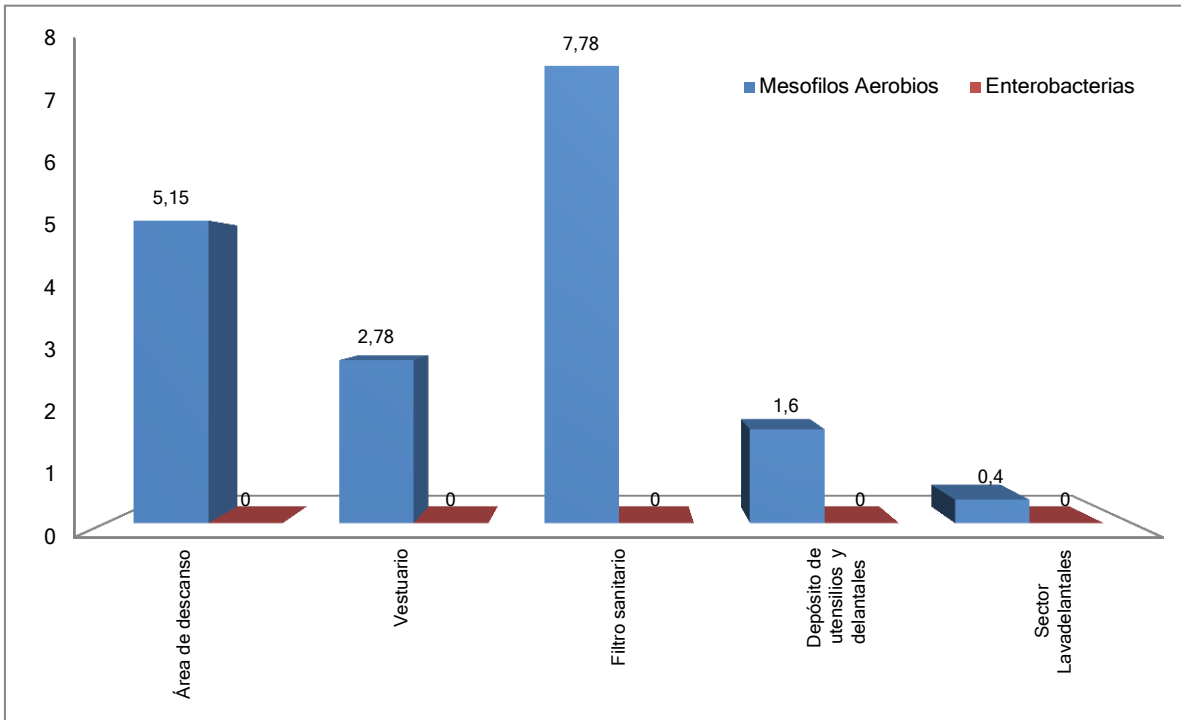


Fuente: Elaboración propia



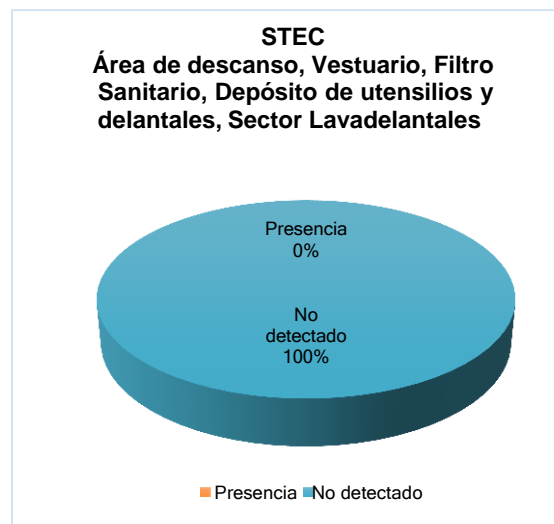
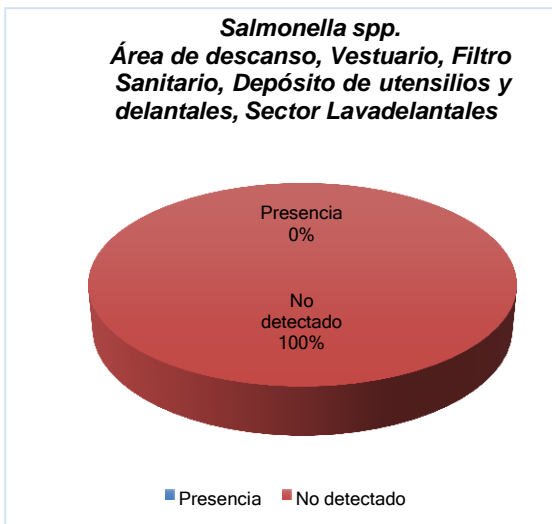
Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 15. Comparación de las medias en UFC/cm<sup>2</sup> de los análisis microbiológicos correspondientes a las superficies de la ZONA 4.**



Fuente: Elaboración propia

**Gráfica 16. Distribución porcentual para *Salmonella* spp y STEC correspondientes a las superficies de la ZONA 4.**



Fuente: Elaboración propia

Análisis de resultados:





En el análisis de la **Gráfica 13**, se pudo analizar que los resultados obtenidos en el recuento de microorganismos mesófilos aerobios de las superficies de esta zona tienden a ser variables en el tiempo, mientras que el recuento nulo de enterobacterias en las mismas superficies se mantuvo constante durante el tiempo de muestreo. Al realizar la detección de datos atípicos (ver tabla 8), se encontró que el 15% de las muestras para mesófilos aerobios y 0% para enterobacterias están por encima del máximo establecido en el diagrama de caja y bigote.

De las **Gráficas 14 y 15** se puede ver que del total de las muestras analizadas en la Zona 4, las que presentaron mayor conteo de UFC/cm<sup>2</sup> de bacterias mesófilas aerobias fueron el filtro sanitario, área de descanso y vestuarios.

En el **Gráfico 16** se puede ver que, de las 20 muestras tomadas y analizadas en este estudio, el resultado fue “**No detectado**” para el 100% de los microorganismos patógenos buscados.

Para poder realizar el análisis integral de los resultados, lo primero que se efectuó fue la eliminación de los datos atípicos obtenidos en cada zona. Un valor atípico o outlier, es una observación que numéricamente es muy distinta al resto de elementos de una muestra, nos pueden causar problemas en la interpretación de lo que ocurre en un proceso. Para poder observar la distribución de los datos, se utilizó el diagrama de caja y bigote. Se sacaron los valores mínimos (LI) y máximos (LS), los cuartiles (Q<sub>1</sub> y Q<sub>3</sub>), el rango intercuartílico (RIC) para cada zona. En un diagrama de caja se considera un valor atípico el que se encuentra 1.5 veces el RIC. De esta forma todo valor que quedara fuera de estos límites se consideraron valores atípicos (ver Anexo 4).

Posteriormente se estableció la frecuencia de aparición de los mismos en cada zona, tal como se aprecia en la siguiente tabla.

**Tabla 8. Porcentaje de datos atípicos en cada zona.**

Identificación	% de Datos atípicos en Mesófilos Aerobios	% de Datos atípicos en Enterobacterias
Zona 1	15.78	11.18
Zona 2	18.18	3.03
Zona 3	12.5	8.33
Zona 4	15	0

Fuente: Elaboración propia



Finalmente se calculó el promedio y la desviación estándar de cada zona (ver Tabla 9 y 10), y con estos datos se establecieron los nuevos intervalos de tolerancia de las mismas (ver Tabla 11 y 12). Se recuerda que la empresa actualmente utiliza como criterio general para los resultados del recuento de bacterias aeróbicas totales y enterobacterias la directiva derogada D 2001/471/CE.

**Tabla 9. Dispersión de los datos con respecto a la media en los análisis microbiológicos de recuento de Mesófilos Aerobios en UFC/cm<sup>2</sup>.**

Identificación	MEDIDAS DE RESUMEN	
	Promedio (UFC/cm <sup>2</sup> )	Desviación Estándar (UFC/cm <sup>2</sup> )
Zona 1	0.9	1.4
Zona 2	0.9	1.4
Zona 3	0.5	0.6
Zona 4	1.8	2.1

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 10. Dispersión de los datos con respecto a la media en los análisis microbiológicos de recuento de Enterobacterias en UFC/cm<sup>2</sup>.**

Identificación	MEDIDAS DE RESUMEN	
	Promedio (UFC/cm <sup>2</sup> )	Desviación Estándar (UFC/cm <sup>2</sup> )
Zona 1	0	0
Zona 2	0	0
Zona 3	0	0
Zona 4	0	0

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 11. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis microbiológicos de recuento de Mesófilos Aerobios en UFC/cm<sup>2</sup>.**

Identificación	LIMITES	
	Límite de Alerta (UFC/cm <sup>2</sup> )	Límite de Acción (UFC/cm <sup>2</sup> )
Zona 1	3.7	5.2
Zona 2	3.7	5.1
Zona 3	1.6	2.2
Zona 4	6.0	8.1

Fuente: Elaboración propia

**Tabla 12. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis microbiológicos de recuento de Enterobacterias en UFC/cm<sup>2</sup>.**

Identificación	LIMITES	
	Límite de Alerta (UFC/cm <sup>2</sup> )	Límite de Acción (UFC/cm <sup>2</sup> )
Zona 1	0	0
Zona 2	0	0
Zona 3	0	0
Zona 4	0	0

Fuente: Elaboración propia



## 8. DISCUSIÓN

El presente estudio se enfocó en evaluar la presencia y distribución de microorganismos en las superficies del sector de desposte de nuestro frigorífico para proponer un Plan de Monitoreo Ambiental en dicha empresa. Los resultados obtenidos ofrecen una visión detallada de la calidad ambiental en este sector crítico para la seguridad alimentaria.

Durante el período de monitoreo, se cuantificaron microorganismos indicadores como son las Enterobacterias y los Mesófilos aerobios, e investigaron los microorganismos patógenos en las superficies de la sección de desposte. Entre ellos se encuentran *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) y *Salmonella* spp. Estos hallazgos son consistentes con la literatura científica que sugiere la presencia de microorganismos indicadores y patógenos en ambientes de procesamiento de carne.

Para ello, se seleccionaron los lugares de muestreo según las zonas definidas por cercanías con el producto, se realizaron las tomas de muestras y se las procesaron utilizando métodos validados. Con estos datos se obtuvieron promedios, desviaciones estándar y los nuevos límites de alerta y de acción para cada zona definida, tanto de mesófilos aerobios como de enterobacterias. La evaluación de nuestros resultados revela que, en varias superficies de las distintas zonas (1, 2, 3 y 4), los niveles de microorganismos indicadores exceden los límites aceptables. Esto es importante debido a que los alimentos están expuestos a contaminación en diferentes puntos del proceso de producción y la presencia de estos microorganismos en algunas superficies indica una falla en el proceso de limpieza.

La empresa cuenta con un manual de procedimiento operativo estándar de sanitización (POES) de las instalaciones y equipos, además de un programa de mantenimiento preventivo/predictivo, correctivo y de mejoras sobre las infraestructuras, máquinas y equipos esenciales para la producción y funcionamiento de la planta. Ambos se encuentran ajustados a las Normas vigentes de ISO, BRCGS y toda norma internacional o nacional definida como crítica u obligatoria, que pudieran tener alta incidencia tanto en la seguridad, legalidad y calidad de los productos.

Los productos que se utilizan en planta para la limpieza y desinfección cuentan con el certificado de inscripción otorgado por el SENASA para su uso desde el punto de vista higiénico-sanitario.

En este estudio, se pudo evaluar que de las 352 muestras tomadas durante los 4 meses, el 82.10% presentaron bajos niveles de microorganismos indicadores, encontrándose debajo de los límites internacionalmente aceptados. De los puntos que exceden estos límites, es decir el 17,90%, se observó que el 5.11% pertenecían a superficies de fácil limpieza, mientras que el 12.79% eran de difícil acceso para la misma.

Del monitoreo de patógenos se extrae que, de las 144 muestras esponjadas sólo se



encontró *Salmonella* spp. en la zona 3 el día 13-03-24, específicamente en los desagües, esta representa un 0.70% del total, es decir que el 99,30 % de las muestras estuvieron dentro de los límites aceptados.

Analizando lo expuesto anteriormente, podemos decir que la presencia de microorganismos puede atribuirse a diversos factores, entre ellos se incluyen prácticas de higiene inadecuadas (presencia de materia grasa y carne, acumulación de agua), mantenimiento deficiente de equipos y utensilios (esterilizador del gancho apagado, cintas de las super vac deterioradas), así como la falta de control en áreas críticas de procesamiento.

Si bien, en el transcurso del muestreo los hallazgos de valores que están dentro de los límites aceptados internacionalmente son superiores, el hallazgo de valores por encima de los límites de advertencia y control calculados es un indicador valioso para investigar las causas y la toma de acciones correctivas.



## **9. CONCLUSIONES**

Después de haber finalizado con los objetivos establecidos para este trabajo, y de haber evaluado las condiciones ambientales existentes en el sector de despostada de la planta frigorífica, se logró establecer una base de datos sólida para que la empresa pueda implementar en su Sistema de Gestión Integrado un Programa de Monitoreo Ambiental (PMA) exigido por la Norma BRC V 9.

El porcentaje de zonas muestreadas libres de patógenos fue del 99,30%. Asimismo, el 82,10% de los valores obtenidos de microorganismos indicadores, están dentro de los parámetros comparables con la directiva derogada D 2001/471/CE (establece límites de aceptación para los análisis microbiológicos de la superficie de locales y equipos) y con los datos históricos de la empresa.

Concluimos que éstos valores indican que el proceso está mayoritariamente bajo control y el riesgo de contaminación desde esas superficies al producto es bajo ya que no se detectó ningún patógeno. Esto también se corroboró con los datos obtenidos sobre producto, en los que no se detectaron patógenos en las pruebas habituales que la empresa realiza como parte de su aseguramiento de la inocuidad. En los casos de valores por encima de los límites de acción y control, se pudo relacionar, la mayoría de las veces, con causas puntuales de no cumplimiento con los procedimientos de limpieza y de mantenimiento por parte del personal encargado de estas actividades.

Teniendo en cuenta que este análisis se llevó a cabo con un nivel de confianza del 95%, donde en toda distribución normal un 5% de valores cae fuera de los límites, se puede apreciar que el 17,89% de valores fuera de límites debe ajustarse para mantener al proceso completamente bajo control. Es por ello que se recomiendan las siguientes acciones correctivas:

- Aumentar la periodicidad de inspecciones visuales por personal de calidad durante la limpieza, como al final de la misma para verificar su eficiencia.
- Verificar que la dotación asignada para la limpieza sea la suficiente.
- Fortalecer la capacitación del personal de limpieza y de mantenimiento, reforzando la cultura de la inocuidad alimentaria.

Luego, para confirmar la eficacia de las acciones correctivas antes recomendadas, se propone, en la Tabla 13, un Programa de Monitoreo Ambiental. En este plan se indica realizar un seguimiento de las superficies según los resultados obtenidos en el estudio, con una frecuencia acorde al riesgo, a la capacidad operativa y económica del laboratorio de la empresa.

**Tabla 13. Programa de Monitoreo Ambiental propuesto para cada zona.**

	Superficies	Frecuencia de muestreo			Microorganismos	
		Quincena I	Mensual	Semestral	Indicadores	Patógenos
<b>Zona 1</b>	Utensilios (cuchillos, ganchos, delantal)		X		X	
	Manos	X			X	
	Mesa de PCC4		X		X	X
	Cinta despostadores	X			X	X
	Cinta de huesos	X			X	X
	Ganchos de noria	X			X	X
	Gancho de transferencia			X		
	Tolva N° 1, 2, 3, 4			X		
	Batea y mesa de remanejo			X		X
	Bines			X		
	Mesa de charqueo N° 1, 2, 3, 4			X		
	Balanza Mesa N° 1, 2, 3, 4			X		
	Mesa de empaque primario N° 1, 2, 3, 4			X		X
	Insumos (etiquetas y bolsas)			X		
	Cinta mesa de charqueo N°1, 2, 3, 4			X		X
<b>Zona 2</b>	Bandeja colectora Mesa N°1, 2, 3, 4		X		X	X
	Super Vac N°1, 2, 3, 4	X			X	
	Bandeja protectora de pasarela		X		X	X
	Cadena de noria	X			X	
	Rodillos cintas Mesa de charqueo N° 1, 2, 3, 4	X			X	X
	Cintas de transferencia empaque primario	X			X	
	Palcos			X	X	
	Mesa de peladero de huesos			X	X	X
	Mesas de empaque primario N° 1, 2, 3 (cortes embolsados)			X	X	X
	Porta etiquetas Mesa N° 1 y 4			X	X	

	Motorola Mesa N° 1, 2, 3, 4			X	X	X
	Manga de aire			X	X	
	Tuberías de agua			X	X	
	Cinta de remanejo			X	X	X
<b>Zona 3</b>	Paredes		X		X	
	Canastos		X		X	
	Desagües	X			X	X
	Depósito de cartones			X	X	
	Balanzas empaque secundario			X	X	
	Sala de etiquetas			X	X	X
	Defensa de columnas			X	X	
	Cinta de transporte empaque secundario			X	X	X
<b>Zona 4</b>	Área de descanso			X	X	
	Filtro sanitario			X	X	X
	Vestuarios			X	X	
	Depósito de utensilios y delantales					X
	Sector Lavadelantales			X	X	X

Por la cláusula 4.11.8.3 correspondiente a la norma Norma BRC V 9:

La empresa deberá revisar el programa de monitoreo ambiental en forma anual y siempre que se produzcan:

- cambios en las condiciones de procesamiento, flujo de proceso o equipos que pudieran afectar el programa de monitoreo ambiental
- nuevos avances en la información científica (p.ej., nuevos patógenos que generan preocupación)
- imposibilidad de los programas de identificar un problema importante (p.ej., pruebas de las autoridades regulatorias que identifiquen resultados positivos que el programa del establecimiento no identificó)
- fallas de productos (productos con resultados de pruebas positivos)
- resultados negativos constantes (p.ej., un establecimiento con una larga historia de resultados negativos debe revisar su programa para considerar si se están evaluando las partes pertinentes de fábrica, si las pruebas se están realizando correctamente, si las pruebas son para los organismos adecuados, etc.). (BRCGS, 2022, p. 66)

La empresa está muy próxima a conseguir mantener el proceso bajo control. Los límites calculados son más estrictos que la legislación usada como comparación. Los parámetros





evaluados de indicadores de higiene lograrán llevar un control ajustado del ambiente, permitiendo espaciar la investigación de patógenos, en el caso de mantenerse bajo los límites establecidos. Esto es importante de tener en cuenta ya que el costo relacionado a la cuantificación de indicadores es varias veces menor que la detección de patógenos y al ser una variable cuantitativa, permite, además, detectar tendencias en el tiempo o variabilidad estacional o puntual y llevar a cabo correcciones y acciones correctivas inmediatas para llevar el proceso bajo control luego de cualquier salida del mismo.

Impacto profesional:

En este trabajo demostramos que, con los conocimientos adquiridos, el egresado de la Licenciatura en Seguridad Alimentaria es capaz de diseñar y supervisar el PMA, estableciendo protocolos de muestreo, análisis y seguimiento de resultados; interpretar los datos obtenidos e identificar posibles riesgos de contaminación; proponer medidas correctivas para prevenir la presencia de microorganismos.

Concluimos que el egresado puede participar en todas las etapas del monitoreo ambiental identificando los peligros involucrados en la producción de alimentos, implementando medidas para la gestión de los riesgos, evaluando el ambiente de producción para asegurar la inocuidad alimentaria de los cortes de carne bovina elaborados, y de este modo contribuir a la salud pública.



## 10. BIBLIOGRAFÍA

- Alli, C., Babich, J., Barril, P., Beltrán Orellana, K., Brusa, V., Burgos, R., . . . Teitelbaum, D. (enero 2024). *Manual para laboratorios de plantas frigoríficas bovinas* (Primera ed.). (G. Leotta, Ed.) Buenos Aires, Argentina: Consorcio de Exportadores de Carnes Argentinas.
- BRCGS. (1 de agosto de 2022). Recuperado el 1 de septiembre de 2023, de Global Standard Food Safety Issue 9: [https://www.brcgs.com/product/global-standard-food-safety-\(issue-9\)/p-13279/](https://www.brcgs.com/product/global-standard-food-safety-(issue-9)/p-13279/)
- 3M. (s.f.). *3M™ Placas Petrifilm™ para recuento de Enterobacterias*. Obtenido de <https://multimedia.3m.com/mws/media/1409679O/guia-interpretacion-petrifilm-enterobacterias.pdf>
- 3M/Cornell University. (s.f.). *Manual de monitoreo ambiental para las industrias de alimentos y bebidas* (Primera ed.).
- California, A. B. (2010). *Programa de monitoreo ambiental de patógenos (MAP). Prevención de recontaminación por Salmonella. spp. Documento guía del Programa de Monitoreo Ambiental de Patógeno*. Modesto, CA 95354 USA.
- Channaiah in collaboration with Curtis E. Anderson, A. B. (Julio - Agosto de 2016). Environmental Monitoring Programs. *ResearchGate*, 61(4), 158-159.
- Comisión de las Comunidades Europeas. (8 de Junio de 2001). Decisión 2001/471/CE. *Normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos*.
- Comité Europeo de Normalización. (2018). *ISO 18593:2018. Microbiología de la cadena alimentaria. Métodos horizontales para toma de muestras de superficies*.
- FSSC 22000. (Julio de 2023). Documento de Orientación: Monitoreo Ambiental. (Versión 6).
- Gonzalo Aleu, M. R. (2018). *Guía para el aseguramiento de la calidad en industrias de alimentos de origen animal*. (Primera ed.). Córdoba, Argentina: Báez Ediciones.
- ICMSF. (2018). *Microorganisms in Foods 7. Microbiological Testing in Food Safety Management*. (Second ed.). Springer.
- ICMSF. (2011). *Microorganisms in Foods 8. Use of Data for Assessing Process Control and Product Acceptance*. Springer.
- ICMSF. (2000). *Microorganismos de los alimentos. Su significado y métodos de enumeración* (Segunda ed., Vol. 1). Zaragoza, España: Acribia, S.A.
- International Standard. (2017). *ISO 6887-1. Microbiology of the food chain - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination. Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions*.



- Lasa, I., Del Pozo, J., Penadés, J., & Leiva, J. (Mayo-Agosto de 2005). Biofilms bacterianos e infección. *28*(2), págs. 163-175.
- Mendoza, J. A. (Febrero de 2015). Evaluación de la formación de biopelículas de *Salmonella* Sp. en equipo de procesamiento cárnico de acero inoxidable.
- Norma Heredia, J. E.-A. (2014). Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. *NACAMEH, Vol. 8*(Sup.1).
- Organización Mundial de la Salud. (7 de Febrero de 2018). Recuperado el 10 de septiembre de 2023, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
- Organización Mundial de la Salud. (20 de Febrero de 2018). Recuperado el 10 de Septiembre de 2023, de [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
- Silvia, M. (9 de agosto de 2013). Apunte de laboratorio. VOLUMEN II: Monitoreo de la higiene de superficies.



## 11. ANEXOS

**Anexo 1. Decisión 2001/471/CE de la Comisión de las Comunidades Europeas que establecen normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos antes del sacrificio.**

Los valores establecidos para el número total de colonias aerobias y de enterobacterias en superficies por medio de la técnica del hisopo son los siguientes:

	Valores aceptables	Valores inaceptables
Bacterias aeróbicas totales	0-10 ufc/cm <sup>2</sup>	> 10 ufc/cm <sup>2</sup>
Enterobacterias	0-1 ufc/cm <sup>2</sup>	> 1 ufc/cm <sup>2</sup>

**Anexo 2. Cálculo del tamaño de la muestra.**

**n = ?** (tamaño de muestra requerido)

**N = 73** superficies (tamaño total de la población)

**Z<sub>α</sub> = 1.96** (parámetro estadístico que se calcula a partir del nivel de confianza, está asociado a la Distribución Normal. En este caso para un nivel de confianza deseado del 95%)

**e = 0.10** (error de estimación máximo aceptado. Se trabajó con un 10% de error)

**p = 0.50** (probabilidad de que ocurra el evento estudiado (éxito))

**q = 0.50** (probabilidad de que no ocurra el evento estudiado (fracaso))

Reemplazando tenemos:

$$n = \frac{73 \times (1.96)^2 \times 0.50 \times 0.50}{(0.10)^2 \times (73-1) + (1.96)^2 \times 0.50 \times 0.50}$$

$$n = \underline{70.11}$$

$$0.72 + 0.96$$

n = 41.7 redondeando

→ n = 42



### Anexo 3. Cálculo de los resultados obtenidos por el método de hisopo.

Se calcula el número de ufc en relación a la superficie de la que se han recogido las muestras de la siguiente manera:

#### Para superficies regulares:

$$\text{UFC/cm}^2 = \frac{N \times F \times D}{A}$$

Dónde:

N = número de ufc en 1 ml del medio de dilución

F = cantidad del medio de dilución presente en la bolsa de homogeneización en mililitros (10 ml)

A = superficie muestreada (100cm<sup>2</sup>)

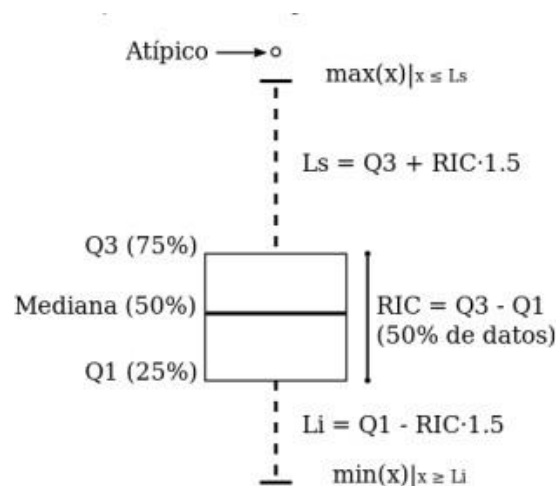
D = recíproco de la dilución utilizada.

#### Para superficies irregulares:

Para utilizar el mismo criterio de análisis y poder pasar todos los resultados a cm<sup>2</sup>, se le asignó a cada superficie irregular un área estimada según una figura geométrica.

Superficie	Área establecida
Rodillo cinta mesa de charqueo	42 cm <sup>2</sup>
Gancho de noria	49,65 cm <sup>2</sup>
Gancho de transferencia	26 cm <sup>2</sup>
Gancho de mano	10,5 cm <sup>2</sup>
Cadena de noria	25 cm <sup>2</sup>
Cuchillo	100 cm <sup>2</sup>
Tubería de agua	25 cm <sup>2</sup>

**Anexo 4. Cálculo de los Límites inferiores (LI) y Límites superiores (LS) de cada Zona utilizando el diagrama de caja y bigote.**



**Mesófilos Aerobios**

**Medidas resumen**

ZONA	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana	Q1	Q3
1	Recuento Mesófilos Aerobio..	152	22.18	127.56	575.03	0.00	1470.30	0.30	0.00	3.00
2	Recuento Mesófilos Aerobio..	132	20.94	82.23	392.77	0.00	560.00	0.40	0.00	3.00
3	Recuento Mesófilos Aerobio..	48	71.71	310.45	432.92	0.00	1750.00	0.30	0.10	1.00
4	Recuento Mesófilos Aerobio..	20	3.54	5.10	144.05	0.00	20.00	1.80	0.10	4.00

**Zona 1 y 2**

$Q_1 = 0$

$Q_3 = 3$

$RIC = Q_3 - Q_1 = 3$

$Li = Q_1 - (RIC \times 1.5) = 0 - (3 \times 1.5) = 0 - 4.5 = -4.5$  (no existen valores negativos)

$Ls = Q_3 + (RIC \times 1.5) = 3 + (3 \times 1.5) = 3 + 4.5 = 7.5$  (valor límite aceptable)

**Zona 3**

$Q_1 = 0.10$

$Q_3 = 1$

$RIC = Q_3 - Q_1 = 0.9$

$Li = Q_1 - (RIC \times 1.5) = 0.10 - (0.9 \times 1.5) = 0.10 - 1.35 = -1.25$  (no existen valores negativos)

$Ls = Q_3 + (RIC \times 1.5) = 1 + (0.9 \times 1.5) = 1 + 1.35 = 2.35$  (valor límite aceptable)

**Zona 4**

$Q_1 = 0.10$



$$Q_3 = 4$$

$$RIC = Q_3 - Q_1 = 3.9$$

$$Li = Q_1 - (RIC \times 1.5) = 0.10 - (3.9 \times 1.5) = 0.10 - 5.85 = -2.75 \text{ (no existen valores negativos)}$$

$$Ls = Q_3 + (RIC \times 1.5) = 4 + (3.9 \times 1.5) = 4 + 5.85 = \mathbf{9.85 \text{ (valor límite aceptable)}}$$

### **Enterobacterias**

#### Medidas resumen

ZONA	Variable	n	Media	D.E.	CV	Mín	Máx	Mediana	Q1	Q3
1	Recuento Enterobacterias	.. 152	0.30	2.07	680.39	0.00	22.20	0.00	0.00	0.00
2	Recuento Enterobacterias	.. 132	0.06	0.54	893.98	0.00	6.00	0.00	0.00	0.00
3	Recuento Enterobacterias	.. 48	1.28	7.80	609.85	0.00	54.00	0.00	0.00	0.00
4	Recuento Enterobacterias	.. 20	0.00	0.00	sd	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

### **Zona 1, 2, 3 y 4**

$$Q_1 = 0$$

$$Q_3 = 0$$

$$RIC = Q_3 - Q_1 = 0$$

$$Li = Q_1 - (RIC \times 1.5) = 0 - (0 \times 1.5) = 0 - 0 = 0$$

$$Ls = Q_3 + (RIC \times 1.5) = 0 + (0 \times 1.5) = 0 + 0 = \mathbf{0 \text{ (valor límite aceptable)}}$$