



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**EVALUACIÓN DEL PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN
DE LA MESA DE DESPIECE EN UNA PLANTA EMPACADORA DE
CARNES FRÍAS EN MÉXICO D. F., POR MEDIO DE
PRUEBAS DE BIOLUMINISCENCIA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A

DOLORES ELIZABETH GUZMÁN ANDRADE

ASESOR: M. en A. JORGE LÓPEZ PÉREZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES
ATN: L. A. ARACELI BERNANDEZ
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis :

Evaluación del Programa de Limpieza y Desinfección de la Mesa de
Despiece en una Planta Empacadora de Carnes Frías en México. D.F.,
por Medio de Pruebas de Bioluminiscencia

que presenta la pasante: Dolores Elizabeth Guzmán Andrade
con número de cuenta: 9156748-6 para obtener el título de :
Médica Veterinaria Zootecnista

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 19 de febrero de 2007.

PRESIDENTE	M.A. Jorge López Pérez	
VOCAL	M.C. Patricia Mora Medina	
SECRETARIO	MVZ. Víctor Genaro Pacheco Bernal	
PRIMER SUPLENTE	MVZ. Graciela Castañeda Aceves	
SEGUNDO SUPLENTE	MVZ. Olivia Adams Vázquez	

RECUERDEN

**Sí lo veo, puedo tal vez recordarlo.
Si lo veo y lo oigo, podría ser me de alguna utilidad.
Pero si lo veo, lo oigo y lo hago,
Nunca se me olvidara por que Forma parte de mi mismo.**

"COATLICUE"

LO QUE LLEVÉ A CABO MOVIDO POR LA IRA
CRECIÓ COMO ÍMPETU DE LA NOCHE A LA MAÑANA
MÁS NO PERDURÓ EN LA LUCHA CON LOS ELEMENTOS
LO QUE SEMBRÉ MOVIDO POR EL AMOR,
GERMINÓ CON FIRMEZA Y MADURO PAUSADO,
Y GOZO DE LA BENDICIÓN DEL CIELO.

"PETER ROSSEGER"

Se impecable con tus palabras: Se íntegro al hablar. Di sólo lo que pienses. Evita usar la palabra para hablar contra tí mismo o contra los demás. Utiliza el poder de tus palabras para avanzar en la dirección de la verdad y el amor.

No te tomes las cosas personalmente: Nada de lo que hacen los demás está causado por tí. Lo que los otros dicen o hacen es una proyección de su propia realidad, de su propio sueño. Al ser inmune a las opiniones y acciones de los demás, no serás víctima de sufrimientos innecesarios.

No hagas suposiciones: Ten valor para hacer preguntas y expresar lo que de verdad deseas. Comunícate con los demás con la mayor claridad posible para evitar los malentendidos y las desgracias.

Da lo mejor de tí mismo: Entrega, en cualquier circunstancia, lo mejor que tengas, evitando mostrarte duro contigo mismo.

"Miguel Ruíz"

"Dar menos de lo mejor es sacrificar tu don" Steve Prefontaine

AGRADECIMIENTOS

A LA UNAM POR DARME LA OPORTUNIDAD DE SER PARTE DE ELLA PARA MI FORMACIÓN PROFESIONAL, SOBRE TODO A LA FES-CUAUTITLÁN, POR TODOS LOS CONOCIMIENTOS ADQUIRIDOS A TRAVÉS DE SU CUERPO DOCENTE, GRACIAS.

Dr. JORGE LÓPEZ P.

**Por la gran ayuda, dedicación, paciencia y apoyo para el termino de este trabajo.
Gracias.**

ING. JUAN GARIBAY.

Por el tiempo dedicado, la paciencia y ayuda a la elaboración de la parte estadística, sin su ayuda no se habría Terminado con éxito este trabajo. Gracias.

Dr. OSCAR GUTIERREZ PULIDO.

Mil gracias por todo el apoyo que me diste para terminar este trabajo sin tu ayuda no lo hubiese logrado.

Dra. DORA LUZ. Y Dra. MARTHA.

**Por el apoyo del material bibliográfico brindado, para el término de este trabajo
Gracias.**

Dra. ESPERANZA GARCIA

Por el tiempo que le dedico a la revisión del trabajo y el apoyo por los comentarios para concluir este trabajo. Gracias.

A MI H. JURADO.

**Por el tiempo que dedicaron a la revisión de esta tesis,
Gracias a sus valiosos comentarios se logro
Obtener un mejor trabajo.
Mil gracias.**

DEDICATORIAS

**GRACIAS DIOS POR PERMITIRME LLEGAR
AL GRAN DÍA Y DARME LA FUERZA Y LA OPORTUNIDAD
DE CUMPLIR MI META.**

A MIS PADRES: GABINA ANDRADE R. Y ANTONIO GUZMÁN B.
POR PERMITIRME CONOCER ESTE MUNDO
Y CON SUS ENSEÑANZAS LLEGAR A
DONDE HE LLEGADO, NO FUE FÁCIL PARA USTEDES,
PERO LOGRARON LLEGAR CONMIGO A SU GRAN
DÍA, PARA VER CULMINADO EL ÉXITO DE SER
PADRES, MIL GRACIAS.

DEDICO ESTE TRABAJO A QUIENES ME DIERON TANTO Y CONFIARON EN MI
SIN ELLAS NO HUBIESE LLEGADO HA DONDE AHORA ESTOY, A QUIEN ME
DECÍA QUE CONFIARA EN MI Y QUE CUANDO ME EQUIVOCARA APRENDIERA
DE ESOS ERRORES Y QUE DISFRUTARA CADA DÍA, PARA SER MEJOR.....
A QUIEN ADEMÁS ME ENSEÑO QUE SI SE CIERRA UNA PUERTA ESTA
OTRA PARA INICIAR Y LOGRAR LA META QUE SE QUIERE.
MIL GRACIAS POR SER MI MAMÁ, POR ESAS GRANDES HERMANAS
QUE TANTO ADMIRO, POR ESE GRAN HERMANO Y ESA GRAN
SOBRINA QUE TENGO, POR QUE NUNCA LAS CAMBIARIA
NI TE CAMBIARIA.

OLIVA GUZMÁN ANDRADE.

**Gracias por todo el apoyo, la confianza y las enseñanzas que
Me diste a lo largo de toda mi vida de estudiante, por enseñarme
Que nunca es tarde para terminar lo que has iniciado a pesar de las adversidades
Y tener persistencia para tener éxito.**

ELVIA GUZMÁN ANDRADE.

**Mil gracias por tenerme tanta paciencia, confianza y creer en mi
Aunque fui tu peor alumna, por ser la mejor
Maestra que tuve, por darme los cimientos para lograr
Llegar a la meta deseada sin ti nunca lo hubiese
Podido lograr, disfruta tu triunfo.**

SILVIA GUZMÁN ANDRADE.

**Gracias por todo el apoyo, enseñanzas, confianza y por creer en mí
Por enseñarme a levantarme cuando me caigo y no importa
Cuantas veces sean, por que nunca es tarde para iniciar un nuevo proyecto,
Que cuando te propones algo lo logras y siempre tener persistencia.**

JACQUELINE V. GUZMÁN ANDRADE.

**Mil gracias por toda la confianza, apoyo, y por creer en mí
Por enseñarme que lo que te propones lo logras, a pesar
De las adversidades que se presentan, gracias por todas tus
Palabras de aliento para lograrlo, por apoyarme en todas mis locuras
Y por enseñarme lo importante que es disfrutar de cada momento de la vida,
De hacer las cosas siempre bien para llegar a la meta.**

EDUARDO A. GUZMÁN ANDRADE.

**Gracias por creer en mí, por la confianza y el apoyo que me das
Por enseñarme que de todo lo malo siempre hay algo bueno que
Aprender, de disfrutar cada instante de la vida y de apreciar
Todo lo que tengo, y con mucho esfuerzo se llega a cruzar la meta.**

ADDA NELLY SEGOVIA GUZMÁN

**Mil gracias por darme momentos de tanta alegría, de enseñarme
A tener persistencia en lo que te propones, que si una vez te caes
Te levantas con más ganas y aprendes de esa caída a valorar
Y a tener persistencia para lograr las metas
Por que es cuando más disfrutas el triunfo.**

A mis adorados hijos mis niños y niñas a: Hans, Jack, Kelly, Lolo, Yaqui, Paloma, Moos, Chiquita, Cucha, Renata, Pulgoso, Chatita, a mis babys de chocolate, Lucas, Willis y a mis gemelos Emilio y Mariano que gracias a ellos encontré mi profesión y junto con ellos descubrimos un gran mundo de cosas por aprender, gracias por tenerme la confianza de poder emplear los conocimientos de mi carrera y darles una mejor calidad de vida, por darme tantos momentos de angustia, alegrías, enojos y sobre todo el gran cariño queme dieron todo este tiempo, mil gracias por ser parte de mi.

A BRYANT.

Gracias por enseñarme a disfrutar cada instante, cada momento porque no se vuelve a repetir, por valorar y amar lo que se tiene. Mil gracias por esa maravillosa amistad, por ser un gran amigo y confidente, gracias por ese hermoso y gran regalo que me diste.

A DIXON.

Gracias por todos los momentos que pasamos, por ser un gran amigo y cuidarme, se cumplió lo anhelado, aunque te adelantaste a donde todos llegaremos algún día se que estarás hay.

A LAS GRANDES CHICAS QUE NUNCA CAMBIARÍA, Y ELLAS SON.... LA TÍA POLY, PRESLEY, LULÚ, FRESKY, SILVANA, SIMONEY, CHERRY, FRESKITA Y GABY, **Y A LOS GRANDES CHICOS** BRYANT, LALO, ANTUAN, HUMBERTO, FERNANDO, DIXON Y HANFOR NO ES FÁCIL LLEGAR, SE NECESITA AHÍNCO, LUCHA Y DESEO PERO SOBRE TODO APOYO COMO EL QUE HE RECIBIDO TODO ESTE TIEMPO. QUIENES CON SU CONFIANZA, CARIÑO Y APOYO SIN ESCATIMAR ESFUERZO ALGUNO ME HAN AYUDADO AL LOGRO DE UNA META MÁS EN MI CARRERA, POR COMPARTIR TRISTEZAS Y ALEGRÍAS ÉXITOS Y FRACASOS, POR TODOS LOS DETALLES QUE ME HAN BRINDADO DURANTE MI VIDA COMO ESTUDIANTE Y POR ESO Y MUCHO MÁS..... GRACIAS.

Dr. Fernando Méndez R.

Por confiar en mí y enseñarme que se debe siempre trabajar con ética, reconocer los errores y aprender de ellos. Mil gracias por todas sus enseñanzas, apoyo, confianza y por su gran amistad.

Dra. Lourdes Ferrano G.

Gracias por las enseñanzas, apoyo, confianza y por su gran amistad.

A NACHITO: Gracias por el apoyo brindado y por estar cuando te necesito.

A PEDRO: Gracias por las palabras de aliento cuando me sentía derrotada.

A mi maestra: Antonia Carreño, gracias por su paciencia y por enseñarme que: The limits of my language, are the limits of my mind, all that I have are words for.....

A las grandes amigas: Melody,, Kimberly,, Mamá osa, Loly, Wilfrida, Fabis, Fliza, Lola, Celeste, Isidora, Ivonne, Juanita, Claudia, Maribel, Aida, Evoryn, Lucy,, Susana, Blanca, Crys, Aty, Joñita y a los grandes amigos: Humberto, Raúl, Fernando, Jedy, Ven, Ffrain, Miguel, Osito, Patito, Juan Carlos y Gerardo, gracias por compartir tantos momentos de alegrías, triunfos y fracasos, por toda la ayuda brindada a lo largo de la carrera.

I N D I C E

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	3
LIMPIEZA	3
DESINFECCIÓN	5
EXAMEN MICROBIOLÓGICO Y DE LIMPIEZA DE LAS SUPERFICIES DE LA MAQUINARIA Y EQUIPO	11
OBJETIVO	15
HIPÓTESIS	15
MATERIAL Y MÉTODO	16
MUESTREO	17
RESULTADOS	18
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	33

RESUMEN

Las empresas elaboradoras de alimentos tienen la responsabilidad de asegurar la inocuidad y calidad de los productos que expenden.

Por esta razón es importante mantener una buena limpieza y desinfección del material utilizado para elaborar los alimentos y de esta manera mantener una buena calidad en el producto terminado, ya que para lograr esta calidad se necesitan métodos de control de limpieza y desinfección específicos, además de pruebas que permitan detectar la deficiencia de cualquier método empleado para estos fines.

Sin embargo para poder lograr un producto terminado de buena calidad es indispensable contar con métodos que ayuden a supervisar la evaluación de la limpieza y desinfección del área de procesamiento del alimento, la disponibilidad de técnicas rápidas y precisas, que permitan un diagnóstico precoz de la contaminación de los alimentos en las diferentes etapas de producción resulta indispensable.

En este sentido la prueba de bioluminiscencia del ATP (adenosin trifosfato) está recomendada para este tipo de procedimientos a fin de verificar la eficiencia de la higiene en la industria alimenticia y asegurar la calidad del producto.

Por lo anterior se evaluó el estado higiénico de dos tipos de superficies de dos mesas de una empacadora de carnes frías, mesa de trabajo y mesa de banda móvil con un kit comercial de bioluminiscencia del ATP, los valores de bioluminiscencia obtenidos en los diferentes puntos de control se determinaron posteriormente a la limpieza siguiendo el protocolo recomendado por el fabricante.

Los resultados indicaron en cuanto al turno (2) que se obtuvieron los mismos niveles de ATP para ambos turnos (mismo grado de limpieza), en cuanto al tiempo es decir días de muestreo se encontraron dos días con niveles bajos de ATP (buena higiene) contra un día donde se obtuvieron niveles altos de ATP (materia residual). En cuanto a los resultados de las superficies de las dos mesas se encontró que tienen los mismos niveles de ATP para ambas superficies.

Lo anterior permite concluir que el método de bioluminiscencia del ATP es una prueba que tiene ventajas como: permite obtener los resultados en segundos, es de fácil manejo y con elevada sensibilidad; las desventajas: son que no permite indicar la presencia o ausencia de microorganismos, sólo informa el nivel total de ATP que existe en una superficie y no se puede saber si éste se debe a la contaminación de la superficie por microorganismos o sólo por materia residual (suciedad formada posiblemente por materia orgánica e inorgánica) como en el caso de este estudio. Además es importante recomendar que paralela a esta prueba de bioluminiscencia del ATP se realice un estudio microbiológico por las razones anteriores.

INTRODUCCIÓN

“La limpieza y desinfección previenen la contaminación de los alimentos producida por las superficies en contacto directo con los mismos. En la mayoría de los casos la higiene es una condición extremadamente necesaria, y como tal debe tener asociado un sistema de monitoreo y registro” (Feldman, 2001).

Por otra parte no sólo se requiere llevar a cabo estos procedimientos sanitarios, ya que su mera aplicación no implica su correcta realización. Por ello es necesario incluir como parte de los programas correspondientes la evaluación de su eficiencia.

Entendiéndose por eficiencia: “Facultad que permite optimizar el uso de los medios para alcanzar un objetivo planteado” (López, 2004). Y por eficacia: “Capacidad para lograr lo que atinadamente se desea” (Paola, 1998).

Los métodos más seguros son los microbiológicos que consisten en la realización de cultivos microbianos a partir de muestras de las superficies involucradas. Sin embargo estos procedimientos resultan costosos y toman demasiado tiempo. Por ello se han buscado otras alternativas. Una de éstas es la orientada a la detección de materia orgánica residual con fundamento en la detección de ATP por bioluminiscencia.

“El ATP es una molécula que está presente en todos los organismos vivos y se encuentra también en grandes cantidades en los alimentos en la forma de ATP - no microbiano y puede estar presente también como ATP- libre. Su presencia puede ser empleada para la detección de estos dos tipos de contaminación en forma conjunta específicamente para monitoreo de higiene de superficies de contacto directo.”(Feldman, 2001).

“En la técnica se emplea un complejo enzimático, denominado **luciferinluciferasa**” (Páez y Taverna, 1999), “que requiere cofactores luciferina, Mg^{2+} y oxígeno para tener actividad” (Forsythe y Hayes, 2002) “ya que convierten la energía química del ATP (microbiano y no microbiano) en luz a través de una reacción de óxido-reducción”. (Páez y Taverna, 1999).

Es decir “la ATP – Bioluminiscencia está basada en una reacción que ocurre en forma natural en las luciérnagas (*Photinus pyralis*). La reacción bioluminiscente catalizada por la luciferasa utiliza energía química contenida en la molécula de ATP para producir la descarboxilización oxidativa de la luciferina a oxiluciferina, dando como resultado la producción de luz. La cantidad de luz emitida es proporcional a los niveles de microorganismos y/o materia orgánica presente” (Feldman, 2001).

MARCO TEÓRICO

LIMPIEZA

“Es el conjunto de operaciones que permiten eliminar la suciedad visible y microscópica” (Lacuna, 2001), que tiene por objeto eliminar tierra, residuos, suciedad, polvo, grasa u otras materias objetables (NOM-120-SSA1-1994). “Estas operaciones se realizan mediante productos detergentes elegidos en función del tipo de suciedad y las superficies donde se asientan” (Lacuna, 2001).

“El objetivo de la limpieza es eliminar de la manera más completa y permanente la suciedad de las superficies a limpiar. Para ello, en el curso del proceso limpiador deben superarse considerables fuerzas de adherencia entre las superficies que se desea limpiar y la suciedad sobre ella depositada” (Wildbrett, 2000).

“Además, para que una superficie esté bacteriológicamente limpia se deben haber eliminado la mayor parte de las bacterias por la higienización mediante el empleo de agua caliente o higienizadores químicos especiales” (Mora, 1990).

TIPOS DE LIMPIEZA

1.- Limpieza Manual: “Es un procedimiento general de limpieza, primeramente se debe eliminar el residuo grosero mediante cepillado o raspadura, posiblemente asociado con un aclarado previo con agua potable. Esta operación debe ir seguida de una limpieza más completa que requiere la aplicación de una solución de detergente.

2.- Limpieza Física: Es con el fin de eliminar la suciedad que se adhiere a las superficies, que puede dar protección a los microorganismos y puede servir de fuente de nutrientes” (Adams, 1997).

- a) Alta Presión: “Buena acción limpiadora sobre suciedades proteicas y grasas, si se utiliza con el debido cuidado.
- b) Vapor: El vapor como tal, no es un agente de limpieza, aunque se emplee fundamentalmente para la desinfección de las superficies metálicas. Sin embargo, si se le proporciona suficiente presión (aproximadamente unos 700kPa) pueden utilizarse pistolas de vapor para eliminar la suciedad. Desgraciadamente el aerosol originado dificulta al operario el establecer la eficacia del procedimiento; las pistolas de vapor también pueden ser peligrosas para el personal y para la maquinaria si no se usan convenientemente” (Hayes, 1993).
- c) Limpieza con Espuma: “La espuma es simplemente intermediario que sirve para el transporte de los agentes de limpieza y desinfección, de manera que éstos actúan sobre las superficies ablandando y removiendo las partículas de suciedad que tiene adheridas. Se busca lograr una acción limpiadora homogénea que llegue a todos los intersticios y actúe durante un tiempo determinado, de modo que no dependa el tiempo de contacto de la inclinación y de la superficie que tenga. Estos sistemas pueden ser por agitación o por alta presión” (Mora, 1990).

d) Sistema de Limpieza “in situ” (CIP): “Un Sistema CIP es una sección cerrada de la planta industrial que se puede limpiar mediante el vaciado del producto seguido de la circulación de una serie de aclarados con soluciones desinfectantes y con agua que limpia y desinfecta la planta industrial dejándola lista para reanudar la producción” (Adams, 1997).

3.- Limpieza Química: “Se fundamenta en el empleo de agentes químicos, estos productos tensoactivos actúan sobre la suciedad rodeándola por adsorción de tal forma la emulsionan y evitan que se redeposite” (Mora, 1990).

“La composición detallada del detergente dependerá de la naturaleza de la suciedad a eliminar, aunque es probable que el componente principal sea un agente tensoactivo: compuesto cuyas moléculas contienen al mismo tiempo fracciones polares (hidrófilas) y fracciones no polares (hidrófobas). El objetivo en la formulación de los detergentes es reducir la tensión superficial de la fase acuosa con los fines de mejorar su capacidad de penetración y de humectación” (Adams, 1997).

“Además pueden servir para ablandar o acondicionar el agua, para mejorar la capacidad mojanter de la solución limpiadora, para emulsionar o saponificar las grasas, para solubilizar las sales minerales, para disociar los precipitados o dispersar las partículas en suspensión, y para disolver la mayor cantidad posible de sustancias solubles” (Frazier, 1997).

PROPIEDADES DESEABLES DE LOS DETERGENTES

1. Ser fácilmente soluble en agua a la temperatura necesaria.
2. No ser corrosivo para las superficies del equipo.
3. Carecer de acción irritante sobre la piel, los ojos y no ser tóxico.
4. Inodoro.
5. Biodegradable.
6. De empleo económico.
7. Fácilmente arrastrables con agua.
8. Estables durante los periodos de almacenamiento largos.
9. Limpiadores efectivos de todo tipo de suciedad. (Forsythe, 2002).

“Entre los compuestos que se utilizan solos o formando parte de mezclas se encuentran los:

- a) Detergentes Alcalinos: Sirven para eliminar lo mismo residuos grasos y proteicos que depósitos de humo, estos son medios muy agresivos, que se comportan como agentes corrosivos”, (Prändl, 1994) “además posee excelentes propiedades disolventes y es bactericida” (Forsythe, 2002) “por ejemplo: la lejía, el metasilicato sódico, el fosfato trisódico, y los polifostatos” (Prändl, 1994).
- b) Detergentes Ácidos: “Generalmente llevan inhibidores de la corrosión y agentes humectantes y como tales pueden emplearse para eliminar los depósitos

inorgánicos, la piedra de leche, lavado de botellas”, (Forsythe, 2002) “proteínas, sangre, grasa, restos especialmente antiguos, así como manchas de óxido y sedimentos de sales de cal. En la práctica es recomendable incluir por lo menos la limpieza ácida una vez por semana, por ejemplo: ácidohidroxiacético, glucónico, cítrico, tartárico y levulínico” (Frazier, 1993).

“El efecto de estos medios se refuerza con acciones mecánicas como frotados, barridos, cepillados, raspados y las practicadas con ayuda de aparatos de pulverización o alta presión e impulsora de chorro de vapor” (Prändl, 1994).

DESINFECCIÓN

Desinfección: “Es la reducción del número de microorganismos a un nivel que no da lugar a contaminación del alimento, mediante agentes químicos, métodos físicos o ambos, higiénicamente satisfactorios. Generalmente no mata las esporas” (NOM-120-SSA-1994).

“Un desinfectante es una sustancia química o agente físico o biológico que elimina o destruye casi todos los microorganismos presentes en materiales inertes. El mecanismo de acción de los desinfectantes químicos está dado por su capacidad de reaccionar con las proteínas y en particular, con las enzimas de microorganismos, los cuales actúan en general ya sea coagulando, precipitando o desnaturizando proteínas” (Mora, 1990).

“El tipo y concentración del producto utilizado, su temperatura y el procedimiento de aplicación varían con el tipo de material a tratar y microorganismos a destruir” (Frazier, 1993).

“De acuerdo a su naturaleza, se clasifican en tres grupos:

1.- Físicos.

- a) Por Calor: - Fuego.
 - Húmedo.
 - Seco.

- b) Por Radiaciones: - Solares.
 - Gamma.
 - Ultravioleta.

- c) Mecánicos: - Arrastre.

2.- Químicos.

- a) Soluciones Químicas.
- b) Aerosoles.
- c) Desinfectantes Gaseosos.

3.- Biológicos.

- a) Antibiosis. (Mora, 1990).
- b) Bacteriosinas.
- c) Pediocinas.

“Es importante conocer las características principales de los desinfectantes más utilizados para determinar, de acuerdo a situaciones específicas el uso de uno u otro para obtener mayores y mejores resultados.

Desinfectante Físico: Calor: Puede aplicarse como vapor, agua caliente o aire caliente.

1.- Calor Húmedo: El medio más eficaz para realizar la desinfección es mediante la aplicación de calor húmedo, que tiene la clara ventaja sobre los desinfectantes químicos de que su eficacia no resulta menoscabada por la materia orgánica residual. Sin embargo, requiere un control cuidadoso para garantizar que se mantiene la temperatura necesaria durante el tiempo suficiente para que resulte eficaz. Este método es más apropiado en los sistemas cerrados” (Adams, 1997).

“También requiere de menor temperatura para su efecto bactericida y viricida que el calor seco. Generalmente las bacterias no esporuladas (incluyendo mycobacterias, pseudomonas, salmonellas, yersinias, brucelas, listerias y campilobacter) son destruidas por calor húmedo alrededor de 60° C. De la misma forma, la mayoría de los virus se destruyen a esta temperatura.

- a) Vapor: Para la desinfección superficial puede aplicarse la corriente de vapor en cuyo caso no actúa a presión y es necesario un periodo de 30 a 40 minutos.
- b) Agua Caliente: Se utiliza generalmente para el lavado de utensilios, equipos e instalaciones. Su acción desinfectante efectiva se limita a los dos primeros, se recomienda exponer a una temperatura de 75 a 82° C (NOM-0093-SSA1-1994), durante 2 minutos a los utensilios y durante 5 minutos a los equipos, al igual que el vapor, tiene el inconveniente de aumentar la humedad del medio y favorecer el desarrollo posterior de nuevas colonias.
- c) Ebullición: Mata a los gérmenes en un tiempo de 10 a 15 minutos pero para mayor seguridad es mejor prolongar la ebullición más allá de lo recomendado.

2.- Calor Seco: No es tan eficaz como el calor húmedo. La muerte por efecto térmico en bacterias que no esporulan fluctúa entre unas 5 hrs. a 45° C, 60 minutos a 54° C o bien, 5 minutos a 60° C.

3.- Fuego: El fuego es importante siempre que se utilice en la lucha contra las enfermedades transmisibles para destruir objetos que representan focos de contaminación” (Mora, 1990). Por lo tanto no es recomendable como método de desinfección en empacadoras de alimentos.

Radiaciones: “Algunos tipos de radiación electromagnética matan los organismos vivos, incluidos los microorganismos.

Luz Ultravioleta (UV): Radiación con una longitud de onda de 10 a 40 nm. Esta luz mata principalmente porque daña el DNA y el DNA absorbe más UV precisamente a dicha longitud de onda, además sólo mata los microorganismos que se encuentran en las superficies por que no pueden penetrar a través de los materiales, incluso no atraviesa el cristal, pero esta luz es perjudicial para la salud” (Ingraham, 1998).

Rayos U. V.: “Su principal aplicación es en las plantas procesadoras de alimentos cárnicos en los sectores de envasado. Tiene el inconveniente de alterar las propiedades organolépticas de los alimentos principalmente de la grasa, debido a que estos compuestos son fácilmente degradables por acción de las radiaciones” (Mora, 1990).

Radiación Solar (Luz Solar): “El alto contenido de luz U.V. en la luz solar mata todos los microorganismos que se exponen directamente a ella” (Ingraham, 1998).

Radiaciones Ionizantes: “Con este nombre se entiende a las radiaciones electromagnéticas de longitud de onda corta y de elevada energía.

En el campo de la conservación de alimentos, la ionización destruye los microorganismos, probablemente al alterarse la estructura sutil de los ácidos nucleicos DNA y RNA. La muerte de la célula bacteriana puede no ocurrir inmediatamente después, de la irradiación sino en, o después, de la siguiente división mitótica.

1.- Rayos gamma: Sólo los rayos gamma tienen un buen poder de penetración, pueden incluso llegar hasta 30cm en el alimento” (Gracey, 1989).

“Producida por cobalto 60, es letal para todos los microorganismos pero se recomienda principalmente con propósitos de esterilización a gran escala” (Mora, 1990).

Desinfectantes Químicos: “Agentes Tensioactivos: Se trata de sustancias que reducen la tensión superficial, los cuales aumentan la permeabilidad de la membrana celular, facilitando de este modo que el agua penetre al interior de la bacteria hasta que ésta estalle.

Compuestos Tensoactivos:

1.- Aniónicos:

- a) Jabones.
- b) Alcoholes sulfatados.
- c) Ésteres sulfatados.

2.- Catiónicos:

- a) Sales de amonio cuaternario.
- b) Poliaminas acilatadas.
- c) Sales de bencilamonio.

3.- No Iónicos:

- a) Ésteres de alcohol polihídrico.
- b) Aminas alcoxilatadas.
- c) Ésteres de polialcanglicoles.

4.- Anfóteros:

- a) Betainas.
- b) Aminoácidos.

Desinfectantes en Aerosoles:

Alcoholes: Los Alcoholes Alifáticos ordinarios son buenos desinfectantes.

El Propilén glicol se utiliza para desinfectar el aire y como conservador alimenticio.

El agua es esencial para la acción potencial del alcohol, el cual actúa desnaturalizando las proteínas bacterianas”. (Mora, 1990).

Su esquema de acción es el siguiente: “El alcohol tiene afinidad por las partes lipoides del germen, destruyendo la cubierta lipídica de la membrana celular, narcotiza sistemas enzimáticos esenciales en el interior de la bacteria y en concentraciones más altas coagula proteínas.

Los microorganismos Gram positivos, Gram negativos y los ácido resistentes son sensibles a los alcoholes; mientras que las esporas bacterianas son resistentes a la acción de éstos.

Desinfectantes Gaseosos:

- a) Aldehídos: Resultan de la oxidación simple de los alcoholes. Reaccionan con los grupos amínicos libres de las proteínas para formar productos de adición, actúan como agentes alcalinizantes, son los más útiles agentes desinfectantes gaseosos, son altamente tóxicos para las bacterias, se usan en el tratamiento de las excretas.
- b) Formaldehído.
- c) Formalina.
- d) Glutaraldehído.

Agentes Oxidantes: Son productos químicos que ponen el oxígeno nascente en los tejidos, por lo que son útiles germicidas. Ocasionalmente oxidaciones, el oxígeno se combina rápidamente con toda clase de materia orgánica y se vuelve inactivo.

- a) Ozono.
- b) Peroxido de hidrógeno.
- c) Permanganato de potasio.
- d) Oxido de etileno” (Mora, 1990).

Los Halógenos: “Yodo y Cloro, son agentes oxidantes. Estas sustancias inactivan los enzimas porque oxidan sus grupos sulfhidrilo (-SH). Los agentes más activos y potentes atacan los grupos amino (-NH₂) y los grupos hidroxilo (-OH)” (Ingraham, 1998).

“Los hipocloritos son los más usados en la industria alimentaria aunque hay otros compuestos que liberan cloro que se emplean en menor extensión como son: cloro gaseoso, fosfato trisódico clorado, y cloraminas orgánicas.

En general los compuestos que liberan cloro son desinfectantes de espectro amplio. Son sensibles tanto las bacterias Gram (+) como las Gram (-), además presentan cierta actividad frente a las esporas bacterianas, no les afecta el agua dura. Las soluciones son más estables a pHs mayores de 9.5, mientras que la actividad germicida es máxima a pH de 4-5; al último pH los efectos corrosivos son mayores” (Forsythe, 2002).

“Deben usarse en concentraciones de 100 a 250 miligramos de cloro disponible por litro. Como este grupo de desinfectantes corroe los metales y produce además efectos decolorante, es necesario enjuagar lo antes posible las superficies desinfectadas con dichos productos, después de un tiempo suficiente de contacto. Los desinfectantes clorados, con excepción del bióxido de cloro, pierden su eficacia ante la presencia de residuos orgánicos” (Flores, 1993).

3.- Biológicos.

- a) Antibiosis (microorganismos con sus metabolitos). (Mora, 1990).
- b) Bacteriocinas: “Son producidas por organismos que se encuentran en los alimentos y por esta razón podrían ser consideradas como naturales y por lo tanto más admisibles que los conservadores alimentarios.
La única bacteriosina que encuentra aplicación en la industria alimentaria es la nisina, producida por determinadas cepas de *Lactococcus lactis*.
Las esporas bacterianas son especialmente sensibles a la nisina y su aplicación principal ha sido para inhibir su excrecencia en productos tales como los quesos tratados y los alimentos enlatados.
Ciertas cepas de esta subespecie son capaces de producir y de excretar una familia de pequeños polipéptidos de 3.500 daltons, lo más frecuentemente en forma de dímero o de tetrámero. Estos polipéptidos se denominan nisina.
La nisina es un polipéptido que contiene 34 aminoácidos y es considerablemente termoestable a pH ácido” (Adams, 1997).

“Su modo de acción se restringe a las bacterias Gram-positivas, actúa sobre las células vegetativas pero impide también la germinación de las esporas de bacterias esporuladas como *Bacillus* sp y *Clostridium* sp.

La nisina inhibe también a las bacterias lácticas como por ejemplo a otras cepas de *Lactococcus lactis* en particular de la sub-especie cremoris. Por el contrario sería inactiva contra los Lactobacilos y contra *Streptococcus thermophilus*.

Su blanco de acción, al menos en *Bacillus*, sería la membrana bacteriana.

Este compuesto derivado de las bacterias lácticas es el único que está comercializado y autorizado en la industria agro-alimentaria para la conservación de los alimentos, en particular para la transformación de la leche en Europa” (Leveau, 2000).

- c) Pediocina: “Es una bacteriocina producida por *Pediococcus acidilactici* y es utilizada como conservador en productos vegetales y cárnicos y se le ha observado una elevada actividad contra especies de *Listeria*.

La pediocina es sintetizada como un pre-péptido de 62 aminoácidos que al ser procesado resulta en un péptido maduro de 44 residuos, anfifílico, con carga positiva y regiones altamente hidrofóbicas y con 2 enlaces disulfuro.

Para la síntesis de la pediocina se ha descrito la participación de un grupo de genes. El gen *pedA* es el gen estructural, el gen *pedB* se requiere para la inmunidad y los genes *pedC* y *pedD* participan en la secreción del péptido maduro.

Dada su alta actividad contra especies de *Listeria* esta bacteriocina tiene un alto potencial para ser utilizada como conservador en alimentos lácteos” (González, 2003).

“Las etapas básicas y la secuencia de la limpieza y desinfección en medio acuoso son las siguientes:

1.- Eliminación grosera de la suciedad con agua fría o caliente. La temperatura del agua dependerá del tipo de sustancia a eliminar y del equipo.

2.- Aplicación de un producto químico (detergente, ácido o álcali) capaz de emulsionar o disolver la suciedad adherida al equipo.

3.- Fregado de las superficies sucias, si fuera necesario.

4.- Aclarado de los detritos suspendidos con agua fría o caliente.

5.- Aplicación de agua caliente 82° C o de un desinfectante para destruir los microorganismos que todavía pudieran haber.

6.- Aclarado o enjuagado del desinfectante (en el caso de que se emplee) con agua potable” (ICMSF, 1980).

EXAMEN MICROBIOLÓGICO Y DE LIMPIEZA DE LAS SUPERFICIES DE LA MAQUINARIA Y EQUIPO

“El análisis de las superficies con las que contactan los alimentos exige primero y principalmente técnicas que garanticen el desprendimiento de los microorganismos de sus matrices. Con frecuencia, los microorganismos se encuentran adheridos firmemente a las superficies del equipo y utensilios, por lo que son necesarios procedimientos meticulosos para desprenderlos.

Placas Rodac: Se ha comprobado que estas placas (pequeñas placas llenas de medio sólido, que forma una superficie convexa) para siembra por contacto o impresión son útiles para el muestreo de las superficies del material, del entorno y de los propios alimentos.

Además las Placas Rodac son muy convincentes en las consultas con la dirección de la planta industrial, porque pueden demostrar de modo espectacular no sólo las deficiencias existentes en la higiene sino también el éxito de cualesquiera medidas correctoras” (Mossel et al, 2003).

Técnica de las placas de contacto y de las láminas para siembra por inmersión, en superficie y por contacto (LISC): “Originariamente, estas láminas fueron ideadas para el análisis bacteriológico de la orina por inmersión. Desde entonces, se ha comprobado que son útiles para las siguientes pruebas en alimentos:

1. Análisis de líquidos tales como el agua, el zumo de frutas, la leche y la sopa, sumergiendo las láminas en la muestra.
2. Siembra convencional en superficie de volúmenes de aprox. 0.02ml.
3. Examen por contacto:
 - a) De superficies de la maquinaria y material de envasado.
 - b) De alimentos tales como productos cárnicos cocidos y cortados en lonchas.
 - c) De las yemas de los dedos.
4. Análisis del aire cuando las láminas se usan como placas de sedimentación.

La vigilancia o comprobación mediante técnicas de impresión sólo recoge un porcentaje reducido y variable de las ufc presentes en las superficies sucias. Sin embargo en la práctica, esto no influye en su utilidad, con tal que:

1. La técnica de muestreo esté normalizada rigurosamente.
2. Los valores de referencia sean los correspondientes a la técnica de muestreo utilizada” (Mossel et al, 2003).

Método con utilización de torundas: “Usar torundas de algodón enrolladas en palitos de plástico de aprox. 15mm de extensión de la superficie utilizable enrollada. Humedecer ligeramente con solución salina peptonada estéril y usar una torunda por cada 100 cm² de superficie. Las torundas se colocan en solución salina peptonada estéril, dispersándose por medio del agitador eléctrico. Se estudia la emulsión de células microbianas.

Además de las técnicas de cultivo para la inspección bacteriológica de superficies diversas, se ha recomendado un nuevo método rápido” (Mossel et al, 2003).

Comprobación por bioluminometría del estado sanitario de las superficies que toman contacto con los alimentos: “Se basa en la valoración de la concentración del trifosfato de adenosina (ATP) microbiano en una determinada área de la superficie. Esta técnica proporciona datos fidedignos sobre la contaminación de las superficies en cuestión de minutos. Sin embargo, los resultados obtenidos deben ser interpretados con cautela, porque parte de los niveles de ATP hallados pueden tener su origen en tejidos vegetales o animales, para determinar si parte del ATP encontrado mediante bioluminometría es de origen microbiano.” (Mossel et al, 2003). “Para conseguir mayor información, en el control higiénico rápido, se utilizan tiras para la prueba de «contaminación del tejido o del líquido tisular» (TTFC) que detectan los péptidos y azúcares reductores; un resultado positivo indica la presencia de material no microbiano, combinaron la bioluminiscencia con la prueba de la «contaminación del tejido o del líquido tisular» (TTFC). Este método resultó rápido y fácil” (Forsythe y Hayes, 2002).

“Un resultado positivo de ATP sugiere que la muestra está contaminada pero no indica si la contaminación se debe a los microorganismos o a los restos de alimentos. Por esta razón resulta problemático establecer valores aceptables para las lecturas de luminiscencia, especialmente si los recuentos en placa se emplean como regla fundamental. Es mejor establecer el nivel de los criterios de bioluminiscencia de acuerdo con los regímenes de limpieza, especialmente como punto de control crítico en el HACCP, y la técnica de bioluminiscencia del ATP permite que se tomen pronto medidas correctoras” (Forsythe y Hayes, 2002).

“Las técnicas de bioluminiscencia que se basan en el ATP como fuente de energía son las de mayor utilidad en las industrias de alimentos y a ellas nos referiremos con mayor atención” (Mossel et al, 2003).

“Recientemente, el uso de la bioluminiscencia del ATP ha encontrado una aplicación cada vez mayor en este campo. Proporciona una medida rápida del estado higiénico de una superficie sin tener que establecer la diferencia entre ATP microbiano y ATP no microbiano ya que los niveles elevados de ATP cualquiera que sea su origen,

indicarán limpieza y desinfección insuficientes, que es lo que pretende este estudio” (Adams, 1997).

“El ATP se encuentra en todas las células y tiene como característica química principal la de poseer dos uniones terminales con un potencial energético mucho más alto que todas las otras uniones químicas. El ATP está compuesto por las bases púricas adenina, una ribosa y tres moléculas de fosfato. En las reacciones celulares, dicho compuesto funciona en forma de un complejo con Mg^{2+} . (La adenina más la ribosa forman el nucleósido adenina.) Los componentes más importantes en la transformación de energía son el ATP y la molécula estrechamente relacionada de ADP” (De Robertis, 1984).

“En la célula viva, el principal compuesto intermediario de alta energía corresponde al trifosfato de adenosina (ATP).

La importancia de los adeninafosfatos en el metabolismo intermedio se puso en evidencia con los descubrimientos de los detalles químicos de la glucólisis y de la función del ATP, del difosfato de adenosina (ADP) y del fosfato inorgánico (Pi) en dicho proceso. El ATP se consideró como un medio para transferir los radicales fosfato, en el proceso de fosforilación. Si bien el ATP y el fosfato de creatina se degradan durante la contracción muscular, su resíntesis depende del suministro de energía a partir de procesos oxidativos en el músculo” (Murria, 2001).

“La bioluminiscencia es una forma de quimioluminiscencia, es decir, la generación de luz por una reacción química” (Fuentes, 1997). “Para que la reacción química se produzca se necesita la concurrencia de cuatro elementos: el oxígeno, un compuesto orgánico denominado luciferina; la enzima catalizadora luciferasa y el ATP (trifosfato de adenosina), una sustancia a partir de la cual, por escisión, él puede generar la energía necesaria para que se dé la reacción” (Lehninger, 1982).

“La Luciferasa: Tiene un peso molecular de 100,000 daltones y consiste en dos subunidades de un peso molecular de 50,000 daltones cada una, a bajas concentraciones la molécula está siempre disociada; las subunidades de la enzima son similares pero no idénticas” (Ceja, 2003).

Especificidad: “La luciferasa de la luciérnaga sólo cataliza la oxidación luminiscente de la luciérnaga” (Ceja, 2003), y “ésta reacción depende de la presencia de ATP, iones de Mg^{+2} , y oxígeno molecular” (Forsythe y Hayes, 2002).

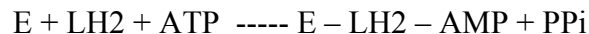
Activadores: “Son activadores el Mg^{+2} , la luciferina y el ATP.

Temperatura y pH: El pH óptimo para su actividad es de 7.8 y la intensidad máxima de luz se observa a 25-26° C.

Estabilidad: La enzima purificada es estable a 4° C pero pierde su actividad por repetidas congelaciones y descongelaciones. La enzima se desnaturaliza por burbujeo de aire a través de la solución por exposición a superficies tales como tiras de celofán o perlas de vidrio” (Ceja, 2003).

“La generación de luz requiere activación de la luciferina por una reacción enzimática con ATP en la que se produce una rotura pirofosfato del ATP formando luciferil adenilato. Sobre este compuesto actúan a continuación el oxígeno molecular y la luciferasa para llevar a cabo la descarboxilación oxidativa de la luciferina que forma oxiluciferina. Esta reacción es acompañada por la emisión de luz” (Lehninger, 1982).

“La serie sucesiva de reacciones que intervienen en la luminiscencia se inician por la reacción de la luciferasa (E) con formación reducida de la luciferasa (LH2) y ATP, para dar lugar a un complejo intermedio de enzima-luciferina-monofosfato de adenosina (AMP), con liberación de un pirofosfato inorgánico (PPi).



El monofosfato de adenosina se encuentra unido al grupo carboxilo de la luciferina luego en presencia de oxígeno, se emite luz cuando E –LH2-AMP se oxida a E-LH2-AMP o sea la combinación de la enzima con la oxiluciferina (L) y monofosfato de adenosina, por último la E-L-AMP se disocian para producir luciferasa libre, luciferina y monofosfato de adenosina. En esta sucesión de acontecimientos la energía química de ATP es convertida en energía luminosa, por lo tanto la cantidad de luz emitida es proporcional a la cantidad de ATP presente” (Villem, 1994).

OBJETIVO:

Comprobar la eficiencia de limpieza y desinfección de una mesa de despiece, ubicada en una planta empacadora de la ciudad de México, por medio de la prueba de Bioluminiscencia del ATP.

HIPÓTESIS:

La Técnica de Bioluminiscencia del ATP es capaz de determinar la eficacia de la limpieza y desinfección que se usa en una mesa de despiece de una planta empacadora de la ciudad de México.

MATERIAL Y MÉTODO

MATERIALES

Sistema Lightning:

- Luminómetro.
- Cargador de batería.
- Correa para llevar el luminómetro en el hombro.
- Manual del luminómetro.
- Dispositivo de hisopo.
- Estación de trabajo.
- Manual del usuario.

El procedimiento seguido, de acuerdo con lo establecido en el manual del equipo empleado, fue el siguiente.

Procedimiento

A. Toma de muestras.

“Se extrajo el dispositivo de muestreo del tubo protector, no se tocó la punta del hisopo o la parte interna del tubo con los dedos.

Se pasó el hisopo por la superficie de ensayo cubriendo un área de 10 x 10 cm, se barrió la superficie como mínimo dos veces presionando firmemente el hisopo y haciéndolo rodar entre los dedos pulgar e índice. Se reintrodujo el hisopo dentro del tubo cerrando con un movimiento circular.

B. Activación.

Para activar el ATP tomado de la mesa con la luciferina, se presiona totalmente el émbolo hacia abajo. El reactivo pasara por dentro del tubo del dispositivo lavando la punta del hisopo y muestra de dentro para fuera.

C. Lectura de Resultados.

Se prendió el aparato Lightning.

Se insertó el dispositivo en el Lightning MVP o luminómetro y el resultado, fue leído en un minuto después de activar el ATP y la luciferina.

D. Interpretación de Resultados.

Se utilizó la configuración patrón del MVP o del luminómetro; las lecturas de área por debajo de 2.5 indican que la superficie deber ser considerada limpia. Lecturas entre 2.5 – 3.0 indican que la limpieza no es adecuada. Si la lectura es mayor de 3.0 indica que la superficie está sucia.” (BioControl Sistemas, Inc. 2002).

MUESTREO

Las mesas del área de despique de la empacadora de carnes frías donde se realizó el estudio tienen las siguientes características: una mide 6 m de longitud y cuenta con una banda móvil de propileno de 12 m de largo por 0.65 m de ancho; a sus costados se ubican mesas de trabajo con placas de nylamid, con dimensiones de 1 m de largo por 0.50 m de ancho.

Las muestras se obtuvieron de manera sistemática los días martes y jueves; la razón por la que se tomaron las muestras dichos días fue por que el sábado se trabaja medio día, transcurriendo varias horas y formándose un vacío sanitario mayor para el día lunes, a diferencia de los otros días; los hisopados se tomaron antes de iniciar la jornada y al término de la misma.

Las superficies que se muestrearon, están ubicadas en las orillas de la mesa de la banda móvil y en el centro de la mesa de trabajo, que corresponden a los puntos de mayor actividad.

RESULTADOS

DISEÑO: El factor turno tuvo dos niveles por que se consideraron el matutino y el vespertino; el factor tiempo tuvo nueve niveles, por que el muestreo se realizó nueve días consecutivos, por lo que al final el diseño empleado para este estudio fue un diseño factorial 2 X 9 y el tamaño de muestra fue de 54.

Para el análisis de estos datos se calculó análisis de varianza. Además se formularon las hipótesis tanto nula como verdadera, para realizar el análisis que permitiera probar cuál de las dos resultaba verdadera para lo cual se aplicó la prueba de Tukey; así mismo se realizó comparación de medias para los resultados obtenidos en los dos tipos de mesa.

$$H_0: \mu_{T1} = \mu_{T2}$$

$$H_1: \mu_{T1} \neq \mu_{T2} \quad \leftarrow \text{comparar 2 renglones.}$$

$$H_0: \mu_{d1} = \mu_{d2} = \dots = \mu_{d9}$$

$$H_1: \text{No todas son iguales.} \quad \leftarrow \text{comparar 9 columnas.}$$

TABLA No. 1 CONCENTRACIÓN DE ATP DETERMINADA POR LA PRUEBA DE BIOLUMINISCENCIA EN LAS SUPERFICIES DE LAS MESAS MUESTREADAS EN UNA EMPACADORA DE CARNES FRIAS DE LA CIUDAD DE MÉXICO SEGÚN TURNOS Y DÍAS DEL MUESTREO

DÍAS									
ESCALA LOGARÍTMICA EN BASE 10									
TURNO	DÍA 1	DÍA 2	DÍA 3	DÍA 4	DÍA 5	DÍA 6	DÍA 7	DÍA 8	DÍA 9
MAT.	5.5	3.1	3.1	5.0	4.6	4.3	4.5	3.1	3.1
	5.4	4.1	4.1	5.4	6.3	4.1	4.1	4.1	4.3
	5.3	4.1	4.1	7.0	6.6	4.6	4.3	4.3	4.5
VESP.	4.4	4.2	7.0	4.1	4.6	4.1	4.1	4.1	4.4
	5.5	4.0	4.1	4.7	3.8	4.3	4.3	4.3	4.3
	5.4	4.3	4.1	4.8	4.0	4.5	4.3	4.1	4.5

Guzmán

Valores de ATP en los días de muestreo y en los diferentes turnos, así como las hipótesis elaboradas tanto nula como verdadera en un diseño factorial 2 X 9.

Factor A = Turno = 2 Niveles = Matutino y Vespertino.
 Factor B = Tiempo = 9 Niveles = 1 día, 2 días, 3 días..... 9 días.
 t = 18 Tratamientos.
 r = 3 Repeticiones.
 El arreglo de las unidades experimentales fue completamente al azar.

$1 \leq i \leq 2$ Niveles de A (renglones).
 $1 \leq j \leq 9$ Niveles de B (columnas).
 $1 \leq k \leq 3$ Repeticiones (celdas).
 n = 54. Tamaño de la muestra.

Variable de Respuesta:

X_{ijk} = el ATP en el turno i -ésimo, en el día j -ésimo, en la medición k -ésima.

TABLA No. 2 AGRUPACIÓN DE FACTORES PARA EL ANÁLISIS DE VARIANZA EN LA PRUEBA DE BIOLUMINISCENCIA REALIZADA PARA LAS SUPERFICIES DE MESAS EN UNA EMPACADORA DE CARNES FRIAS

TURNO	DÍAS DE MUESTREO	NÚM. DE MUESTRAS
MATUTINO	9	3
VESPERTINO	9	3

Guzmán

Los factores de análisis fueron turno matutino (antes limpieza) y turno vespertino (después limpieza) cada una con 27 muestras obtenidas en 9 días de muestreo, por cada día se tomaron 3 muestras antes de comenzar la jornada de trabajo para evaluar la limpieza y 3 muestras después de la jornada de trabajo, para un total de 6 muestras por día, para así evaluar la limpieza de ambos turnos.

Para analizar estos resultados y determinar si existió una diferencia significativa entre los tratamientos que se estudiaron con base en la variable dependiente (ATP), se aplicó el análisis de varianza, a turno y tiempo.

TABLA No. 3 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LA VARIABLE DEPENDIENTE AL APLICAR LA PRUEBA DE BIOLUMINISCENCIA EN LA SUPERFICIE DE DOS MESAS EN UNA EMPACADORA DE CARNES FRIAS.

VARIABLE DEPENDIENTE ATP

FUENTE DE VARIACIÓN	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	CUADRADO MEDIO	F CALCULADA	SIG.
TRATAMIENTOS	21.928	17	1.290	3.039	0.002
TURNO	0.135	1	0.135	0.318	0.576
TIEMPO	11.820	8	1.478	3.481	0.005
TURNO*TIEMPO	9.973	8	1.247	2.937	0.012
ERROR	15.280	36	0.424		
TOTAL	37.208	53			

Guzmán

En este análisis de varianza se tomó la columna de la **F** calculada, la cual indica el valor numérico que tendría la variable que se está probando y en qué lugar se ubicaría en una grafica de distribución “**F**”. Si este valor se encuentra cercano al cero en dicha gráfica, no existe diferencia significativa, pero si la **F** calculada se encuentra lejos del valor cero, la diferencia entre los grupos es más grande y por lo tanto habrá una diferencia significativa.

La interpretación de los resultados de la tabla No.3 sólo indica si hubo o no diferencia significativa para cada uno de los resultados obtenidos. En lo que se refiere al turno no se encontró diferencia, es decir que los niveles de ATP detectados fueron los mismos en ambos turnos. En cuanto al tiempo, sí se encontró diferencia significativa; esto indica que la efectividad de la limpieza detectada por la prueba de bioluminiscencia no fue igual todos los días; para saber qué días se detectaron niveles bajos de ATP indicando un lugar limpio y cuándo niveles altos indicando un lugar sucio se realizó la prueba de Tukey. Y por último la interacción entre turno y tiempo se determinó para saber si hubo diferencia o no y es donde se unen las variables estudiadas.

TABLA No. 4 COMPARACIONES MÚLTIPLES PARA LA PRUEBA DE TUKEY

Esta prueba es aplicable a pares de medias, necesitando de un solo valor para juzgar la significancia de todas las diferencias.

Variable dependiente: ATP

Tukey HSD. Basado en el cálculo de medias.

(I) TIEMPO	(J) TIEMPO	Media diferencial (I-J)	Error estándar	Sig.	95% Intervalo de Confianza		
					Limite bajo	Limite alto	
1	2	1.283*	.376	.038	4.316E-02	2.524	
	3	.833	.376	.418		2.074	
	4	8.33E-02	.376	1.000		-1.157	1.324
	5	.267	.376	.998		-.964	1.507
	6	.933	.376	.264		-.307	2.174
	7	.983	.376	.216		-.257	2.224
	8	1.250*	.376	.047		9.822E-03	2.490
	9	1.067	.376	.140		-.174	2.307
	2	1	-1.283*	.376		.038	-4.316E-02
3		-.450	.376	.952	-1.690	.790	
4		-1.200	.376	.064	-2.440	4.018E-02	
5		-1.017	.376	.183	-2.257	.224	
6		-.350	.376	.990	-1.590	.890	
7		-.300	.376	.996	-1.540	.940	
8		-3.333E-02	.376	1.000	-1.274	1.207	
9		-.217	.376	1.000	-1.457	1.024	
3		1	-.833	.376	.418	-2.074	
	2	.450	.376	.952	-.790		1.690
	4	-.750	.376	.557	-1.990		.490
	5	-.567	.376	.845	-1.807		.674
	6	1.000E-01	.376	1.000	-1.140		1.340
	7	.150	.376	1.000	-1.090		1.390
	8	.417	.376	.967	-.824		1.657
	9	.233	.376	.999	-1.007		1.474
	4	1	-8.33E-02	.376	1.000		-4.018E-02
2		1.200	.376	.064	-4.018E-02	2.440	
3		.750	.376	.557	-.490	1.990	
5		.183	.376	1.000	-1.057	1.424	
6		.850	.376	.392	-.390	2.090	
7		.900	.376	.318	-.340	2.140	
8		1.167	.376	.079	-7.351E-02	2.407	
9		.983	.376	.216	-.257	2.224	
5		1	-.267	.376	.998	-1.507	
	2	1.017	.376	.183	-2.224		2.257
	3	.567	.376	.845	-.674		1.807
	4	-.183	.376	1.000	-1.424		1.057
	6	.667	.376	.699	-.574		1.907
	7	.717	.376	.615	-.524		1.957
	8	.983	.376	.216	-.257		2.224
	9	.800	.376	.472	-.440		2.040
	6	1	-.933	.376	.274		-2.174
2		.350	.376	.990	-.890	1.590	
3		-1.000E-01	.376	1.000	-1.340	1.140	
4		-.850	.376	.392	-2.090	.390	
5		-.667	.376	.699	-1.907	.574	
7		5.000E-02	.376	1.000	-1.190	1.290	
8		.317	.376	.995	-.924	1.557	
9		.133	.376	1.000	-1.107	1.374	
7		1	-.983	.376	.216	-2.224	
	2	.300	.376	.996	-.940		1.540
	3	-.150	.376	1.000	-1.390		1.090
	4	-.900	.376	.318	-2.140		.340
	5	-.717	.376	.615	-1.957		.524
	6	-5.000E-02	.376	1.000	-1.290		1.190
	8	.267	.376	.998	-.974		1.507
	9	8.333E-02	.376	1.000	-1.157		1.324
	8	1	-1.250*	.376	.047		-9.822E-03
2		3.333E-02	.376	1.000	-1.207	1.274	
3		-.417	.376	.969	-1.657	.824	
4		-1.167	.376	.079	-2.407	7.351E-02	
5		-.983	.376	.216	-2.224	.257	
6		-.317	.376	.995	-1.557	.924	
7		-.267	.376	.998	-1.507	.974	
9		-.183	.376	1.000	-1.424	1.057	
9		1	-1.067	.376	.140	-2.307	
	2	.217	.376	1.000	-1.024		1.457
	3	-.233	.376	.999	-1.474		1.007
	4	-.983	.376	.216	-2.224		.257
	5	-.800	.376	.472	-2.040		.440
	6	-.133	.376	1.000	-1.374		1.107
	7	-8.333E-02	.376	1.000	-1.324		1.157
	8	.183	.376	1.000	-1.057		1.424

Guzmán

*.La media diferencial es significativa $P < 0.05$.

PRUEBA DVS DE TUKEY

Se aplicó esta prueba para saber qué días se encontraron niveles bajos de ATP y cuándo niveles altos, indicando días limpios o sucios, y así poder probar las hipótesis tanto nula como verdadera.

“La prueba de Tukey, generalmente se conoce como prueba DVS (diferencia verdaderamente significativa).

Esta prueba es aplicable a pares de medias, necesitando de un solo valor para juzgar la significancia de todas las diferencias” (Steel, 1986).

El nivel de significancia es 0.05

TABLA No. 5 PRUEBA DE TUKEY EN COMPARACIONES MULTIPLES PARA DETERMINAR LA EFICIENCIA DE LA PRUEBA DE BIOLUMINISCENCIA EN LOS DÍAS MUESTREADOS

TIEMPO	N	Subgrupos	
		1	2
2	6	3.967	
8	6	4.000	
9	6	4.183	4.183
7	6	4.267	4.267
6	6	4.317	4.317
3	6	4.417	4.417
5	6	4.983	4.983
4	6	5.167	5.167
1	6		5.250
Sig.		0.064	0.140

Guzmán

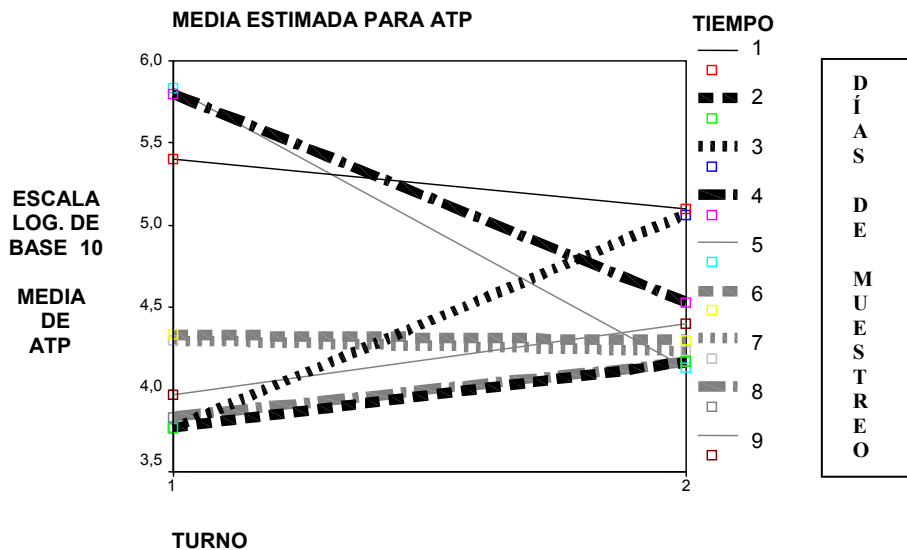
$$H_0 : \mu_{d1} = \mu_{d2} = \dots = \mu_{d9}$$

H_1 : Por lo menos 2 son diferentes.

Se acepta H_1 por que: $\mu_{d2} = \mu_{d8} < \mu_{d1}$

Sólo se encontró diferencia significativa entre los días 2 y 8 contra el día 1, considerando que la variable dependiente es el ATP (limpieza) y que los días 2 y 8 se encontraron los niveles más bajos de este compuesto (es decir, mayor limpieza) y el día 1 los más altos (más suciedad residual).

GRÁFICA No. 1
RESULTADOS DEL ANALISIS DE VARIANZA POR MEDIO DE LA PRUEBA DE
BIOLUMINISCENCIA COMPARANDO LA INTERACCIÓN
TURNO*TIEMPO



1.- MATUTINO. 2.- VESPERTINO.
Fuente: Guzmán.

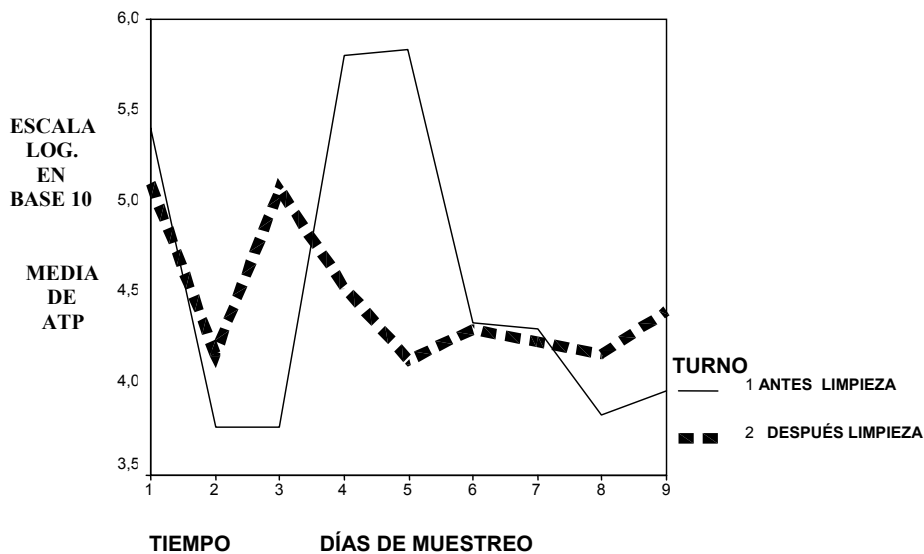
Se puede observar la interacción de los días 1, 4 y 5 en los que se puede señalar que antes de la limpieza, es decir en el turno matutino se observaron los niveles más altos de ATP, pero cuando se muestrearon en el turno vespertino o sea, después de la limpieza disminuyeron los niveles de ATP mientras que en el turno matutino del día 3 los niveles de ATP fueron bajos y en el turno vespertino aumentaron mucho.

En cuanto a los días 2 y 8 en el turno matutino se presentaron los niveles más bajos de ATP en tanto que en el vespertino tuvieron un ligero aumento aunque de cualquier manera se puede observar que son los niveles más bajos.

Así mismo los días 6 y 7 se mantuvieron los niveles de ATP estables tanto antes como después limpieza.

GRÁFICA No.2

COMPORTAMIENTO DE LA VARIABLE DEPENDIENTE (ATP) EN LOS DOS TURNOS DE LIMPIEZA



Fuente: Guzmán

En la gráfica No. 2 se puede observar que no hay diferencia como se muestra en la tabla No.1, en la columna de significancia; esto indica que en el turno 1 (antes limpieza) y en el 2 (después limpieza), se encontró la misma cantidad de ATP.

Por lo tanto las hipótesis formuladas fueron las siguientes:

$$H_0: \mu_{T1} = \mu_{T2}$$

$$H_1: \mu_{T1} \neq \mu_{T2}$$

Se acepta H_0

TABLA No. 6
VALORES DE LA VARIABLE DEPENDIENTE (ATP) DE LAS SUPERFICIES DE
DOS MESAS DIFERENTES DETERMINADAS POR LA PRUEBA DE
BIOLUMINISCENCIA EN UNA EMPACADORA DE CARNES FRIAS

Mesa	X_{ij}																	
1	5.5	3.1	3.1	5.0	4.6	4.3	4.5	3.1	3.1	4.4	4.2	7.0	4.1	4.6	4.1	4.1	4.1	4.4
2	5.4	4.1	4.1	5.4	6.3	4.1	4.1	4.1	4.3	5.5	4.0	4.1	4.7	3.8	4.3	4.3	4.3	4.3
	5.3	4.1	4.1	7.0	6.6	4.6	4.3	4.3	4.5	5.4	4.3	4.1	4.8	4.0	4.5	4.3	4.1	4.5

Guzmán.

$X_{11} \dots \dots \dots X_{118}$

$X_{21} \dots \dots \dots X_{236}$

En la tabla No. 7 se muestra el resultado del análisis de comparación de medias de la variable dependiente ATP residual en las superficies de las mesas: Mesa de Trabajo (1), y Mesa de Banda Móvil (2), concluyendo que las varianzas son iguales.

TABLA No. 7
ESTADÍSTICA DE GRUPO PARA LA SUPERFICIE DE DOS MESAS
DETERMINADAS POR LA PRUEBA DE BIOLUMINISCENCIA

	MESA	N	MEDIA	DESV. ESTANDAR	ERROR ESTANDAR
ATP	1	18	4.294	0.951	0.224
	2	36	4.611	0.767	0.128

Guzmán.

TABLA No. 8

PRUEBA DE COMPARACIÓN DE MEDIAS PARA LA SUPERFICIE DE DOS DIFERENTES MESAS DETERMINADAS POR LA PRUEBA DE BIOLUMINISCENCIA EN UNA EMPACADORA DE CARNES FRIAS

	PRUEBA DE COMPARACIÓN DE VARIANZAS		COMPARACIÓN DE MEDIAS						
	FC	SIG.	t	gl	SIG. DE (2COLAS)	DIF. DE MEDIAS	ERROR EST. DIFER.	95% INTER. DE CONF. DE LA DIFERENCIA	
								INFERIOR	SUPERIOR
ATP ASUMIENDO QUE LAS VARIANZAS SON IGUALES	0.115	0.736	-1.318	52	0.193	-0.317	0.240	-0.799	0.165

Guzmán.

El resultado más importante en la tabla No.8, reside en el valor de la significancia ya que al comparar las medias, no se encontró diferencia significativa, es decir se encontró que las varianzas son iguales, lo que indica que los valores de las medias obtenidas para ATP son iguales en los dos tipos de mesas muestreadas; esto es que la mesa de trabajo tiene la misma cantidad de ATP que la mesa de banda, lo que indica que las superficies de ambas mesas tienen en promedio el mismo grado de limpieza, y considerando los valores encontrados se puede decir que el resultado obtenido de ATP y por ende de limpieza y desinfección no está influenciado por el tipo de superficie del que está hecha cada mesa.

DISCUSIÓN

De acuerdo con numerosos autores, la prueba de bioluminiscencia ATP no es capaz de diferenciar el origen de este compuesto energético. Por esta razón Moore y Griffith trabajaron en 4 tipos de industrias diferentes comparando los resultados de niveles de contaminación microbiana por 3 diferentes métodos: Microbiología tradicional, bioluminiscencia y detección de proteína, habiendo encontrado, no sólo en éste, sino en numerosos estudios, “buena correlación entre los resultados obtenidos usando métodos de conteo en placa y bioluminiscencia del ATP” (Moore y Griffith, 2002).

Además, entre los resultados que obtuvieron se determinó que “En cualquier área asociada con materia prima y productos preprocesados cárnicos o vegetales, es altamente probable que las superficies se contaminen con elevado número de organismos viables así como con elevados niveles de desechos orgánicos (residuos orgánicos, microorganismos y agua) que pueden aportar cantidades significativas de ATP”(Moore y Griffith, 2002).

Sin embargo, en ese estudio “la mayoría de las superficies muestreadas estuvieron dentro de área de las consideradas como de “alto riesgo”, es decir, áreas postproceso, en las que las superficies de contacto con alimentos debieran tener sólo niveles mínimos de contaminación microbiana.”. Por lo tanto, se esperaría que en ellas “la contaminación de cualquier superficie esté formada predominantemente por residuos orgánicos” (Moore y Griffith, 2002) y no por microorganismos.

En el presente estudio, en cambio, se trabajó en un área de preproceso, en la que la cantidad de ATP se supondría originada tanto por la gran cantidad de microorganismos viables aportados en este caso por la carne cruda, así como por los detritus generados por el manejo del propio alimento.

Aunque los resultados de este trabajo mostraron alcanzar valores en las concentraciones de ATP que equivaldrían a estar por encima de los límites de microorganismos establecidos en la NOM-092-SSA-1994, ello podría ser cuestionado a la luz del mismo trabajo de Griffith, lo que además sería consistente en relación con la conclusión de que, “...las superficies que fueron más probablemente consideradas inaceptables para la producción de alimentos, usando bioluminiscencia del ATP, serían consideradas “aprobadas” en cuanto a limpieza mediante el empleo de microbiología tradicional” (Moore y Griffith, 2002).

Asimismo establecieron que “en muchos casos las bacterias se transportan con el alimento a una superficie...” (Moore y Griffith, 2002)

Así N. Oulahal-Lagsir et al, (2000), realizaron un estudio de metodología ultrasónica acoplada a bioluminiscencia del ATP, comparando varios métodos de limpieza como son: método de frotamiento, tratamiento ultrasónico (que es una técnica invasiva ya que las muestras de superficie tienen que extraerse de la planta y estudiarse en baños sonificadores), y microscopía electrónica de rastreo (SEM), en las cuales se observó la remoción o eliminación de la biopelícula en las superficies de materiales estándar (acero

inoxidable y polipropileno) utilizados en este estudio. Estos autores denominan a una biopelícula como “una superficie de acumulación de microorganismos, con frecuencia caracterizada por grandes cantidades de polímeros orgánicos de origen microbiano que unen células y otros materiales orgánicos e inorgánicos entre ellos y con el sustrato”, señalando además que “La presencia de microorganismos formadores de lama (biopelícula) es uno de los principales problemas para la limpieza y desinfección del equipo de proceso. La higiene de superficies, instrumentos y equipo en la industria de alimentos afecta esencialmente la calidad de los productos procesados.”

“Los materiales utilizados para este estudio (Oulahal-Lagsir et al, 2000) fueron dos tipos de hojas (acero inoxidable y polipropileno) las cuales se obtuvieron de una fábrica de lácteos. Estas hojas se sometieron a dos tipos diferentes de técnicas para remoción de la biopelícula, para la primera hoja, esta remoción se logró por sonicación y se cuantificó por bioluminiscencia del ATP (RLU), obteniendo como resultado que fue constante para los dos tipos de hojas; la biopelícula de la segunda hoja se desmontó por el método de frotamiento y también se cuantificó por bioluminiscencia del ATP obteniendo como resultados una variabilidad en la cantidad removida esto es $\pm 42\%$ (coeficiente de variación) para la hoja de acero inoxidable y $\pm 74\%$ para la hoja de polipropileno”. En cambio, al comparar estos resultados con los obtenidos en el presente estudio, en donde también se muestrearon superficies de dos materiales (propileno y nylamid) por el método de frotamiento y se cuantificó por el método de bioluminiscencia se obtuvo como resultado que ambas superficies tuvieron la misma cantidad de ATP indicando contaminación y no fue posible determinar que tipo de ATP era, lo cual coincide con lo encontrado por Oulahal-Lagsir: “el protocolo de limpieza no fue efectivo y esto fue patente sólo con el método que utilizó el aparato de sonicación (resultado positivo, i.e., 229 ± 91 RLU cm^{-2}) mientras que el método de frotamiento tuvo lecturas de cero, “La detección de ATP por bioluminiscencia reveló contaminación, pero no fue posible determinar si provenía de microorganismos muertos, de microorganismos viables o de otra materia que contenía ATP, e.g. residuos de alimentos.”

Simultáneo a este estudio, García, (2005) realizó pruebas microbiológicas a partir de las mismas superficies de polipropileno y nylamid cuyos resultados se compararon con los resultados de nuestro estudio para poder establecer con mayor precisión el origen del ATP, sea bacteriano o de residuos orgánicos.

Los resultados obtenidos del estudio de las pruebas microbiológicas realizadas por García indican que sí hubo diferencia significativa entre los dos tipos de superficies, ya que la media de la mesa de banda móvil fue diferente a la media de la mesa de trabajo, obteniéndose el valor más alto en esta última en tanto que en el presente estudio no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$), lo que concuerda con el supuesto señalado por Oulahal-Lagsir de que la mesa de banda móvil estaba contaminada por materia residual y no por microorganismos como la mesa de trabajo, ya que como lo señala Oulahal: “De hecho la prueba de higiene se basa en el cultivo convencional utilizando frotamiento. Comparó diferentes superficies y mostró que una estructura de superficie suave es más fácilmente frotada que las superficies más ásperas. Las hojas de polipropileno dieron

resultados variables y la limpieza exitosa se asoció a la cantidad de daño de superficie. Los resultados obtenidos en este estudio apuntan al hecho de que el método de frotamiento puede subestimar gravemente la biopelícula presente en superficies industriales, y esto varía dependiendo de la naturaleza de las superficies. Los problemas con los métodos basados en el frotamiento son causados por la fuerte adherencia microbiana y el crecimiento en capas formadoras de biopelículas en las superficies” (Oulahal-Lagsir et al, 2000).

Los resultados del estudio realizado por Oulahal Lagsir et al, 2000, “mostraron que los procedimientos de limpieza no eran completamente confiables para la eliminación de ATP. Éste podría ser ATP microbiano o no microbiano. Varios estudios han sugerido que la limpieza y saneamiento inadecuados de superficies cubiertas con biopelícula provocan contaminación, ya que la biopelícula protege a los microbios contra los limpiadores y desinfectantes. La ineficacia de la limpieza industrial sólo se reveló con el nuevo aparato ultrasónico acoplado a la bioluminiscencia del ATP.”

Si se compara la explicación anterior con los resultados de este estudio refiriéndonos al tiempo (días de muestreo) encontramos una diferencia significativa en cuanto a días ($P < 0.05$) ya que se puede decir que hubo días donde los niveles de ATP fueron bajos y otros donde los niveles de ATP fueron altos lo que permite suponer una inadecuada limpieza y desinfección, resultados que al ser comparados con el método microbiológico (García, 2005) permitieron referir que sí hubo una mala limpieza y desinfección, por que mientras la prueba de bioluminiscencia indica alta cantidad de ATP el método microbiológico no indica contaminación.

Por otra parte llegan a la misma conclusión los autores Griffith y Moore, 2002 y Oulahal-Lagsir et al 2000, ya que para saber que tipo de ATP, microbiano o no microbiano, se encuentra en las superficies, es necesario realizar un estudio microbiológico, para saber cuantos microorganismos se pueden determinar o si sólo se encuentra materia residual por un mal procedimiento de limpieza.

Mansel W. Griffiths, en 1996 “Realizó un trabajo en maquinas cortadoras de carne y comida envasada las cuales se limpiaron y fueron valoradas por conteo de placa y bioluminiscencia del ATP. Obteniendo que el conteo es bajo para ambos protocolos, después realizaron una limpieza adecuada; inmediatamente después se usó conteo de placa el cual permaneció bajo pero las concentraciones del ATP fueron elevadas. Ambos conteos regresaron a niveles iniciales siguiendo procedimientos de sanitización.” Es decir que la contaminación de la superficie es por residuos orgánicos y no por microorganismos, como ocurrió en nuestro estudio.

Los resultados obtenidos de los estudios de Oulahal-Lagsir et al 2000 y Griffiths, 1996, son similares con nuestro estudio, ya que los resultados obtenidos a partir de ambos tipos de mesas también produjeron lecturas elevadas de ATP las que, al compararse con los resultados de los métodos microbiológicos permiten suponer que el ATP detectado en la banda móvil es de origen residual producido por la carne, lo que Oulahal-Lagsir llamaría una biopelícula y que no podría ser eliminada tan fácilmente mientras que la mesa de trabajo contenía niveles más altos de microorganismos. De igual manera, y considerando

lo planteado por Moore y Griffith, en 2002, quienes llegaron a la conclusión de que las superficies que fueron más probablemente consideradas inaceptables para la producción de alimentos usando bioluminiscencia del ATP, serían consideradas aprobadas en cuanto a limpieza mediante el empleo de microbiología tradicional, los resultados de este estudio podrían considerarse compatibles comparando los dos tipos de superficies muestreadas.

Así mismo, paralelo a la presente investigación, Sánchez (2004), realizó la evaluación de la eficacia del desinfectante (cuaternario de amonio), que se estaba empleando en la planta en cuestión, el cual también se comparó con los resultados de nuestro estudio.

Sánchez (2004) realizó la evaluación *in vitro* de la eficacia de un desinfectante comercial con base de cuaternario de amonio, usado en una mesa de despiece en una empacadora de carnes frías, por el método de difusión en disco en dos concentraciones del desinfectante, 450 ppm (concentración de uso) y de 75,000 ppm (7.5% concentración comercial) contra dos bacterias de referencia *Staphylococcus aureus* y *Echerichia coli* realizando las pruebas en siembras de estas bacterias por separado y en combinación, y trabajando un grupo control negativo en el que no se emplea desinfectante. Los halos de inhibición se midieron con un calibrador Vernier y se expresaron en mm.

Los resultados indican que el desinfectante a una concentración de 450 ppm es efectivo *in vitro* contra *S. aureus* y la combinación de *S. aureus* y *E. coli*; pero no así contra el cultivo purificado de *E. coli* y, en los grupos de prueba donde se usó la concentración de 75,000 ppm se presentó una inhibición importante, pero el uso del desinfectante a esta concentración puede producir una contaminación química del (los) producto(s).

Green Tracy A. et al, en 1999. “Realizaron un estudio de dos fuentes de ATP, ATP puro (PATP) y ATP extraído de exudado de la canal del pollo de engorda (CJATP); estos residuos se expusieron a nueve limpiadores químicos comerciales o sanitizadores comerciales en tres concentraciones en cada uno de los ensayos repetidos seis veces. Se analizaron diez muestras, cada una de PATP y CJATP, para obtener LRLU control, y tres muestras se analizaron para cada combinación de concentración-fuente de ATP de los nueve químicos probados en cada una de las seis repeticiones”.

Tomando como referencia los resultados de este estudio (Green Tracy A. et al, 1999.) “El tratamiento con un desinfectante de cuaternario de amonio (QA) aumentó significativamente ($P \leq 0.05$) la LRLU para PATP en un 3 y 7% a 267 y 534 ppm, respectivamente. El QA a 26.7, 267 y 534 ppm aumentó significativamente ($P \leq 0.05$) las lecturas LRLU para CJATP en un 3, 5 y 10%, respectivamente. Ellos reportaron efectos reforzadores similares de QA sobre las mediciones de ATP.

El agente antibiopelícula (AB) al 1 y 2%, redujo significativamente la LRLU en un 53 y 53%, 43 y 51% para PATP y CJATP, respectivamente. El AB al 0.1% redujo significativamente ($P \leq 0.05$) la LRLU de PATP un 4% pero no afectó significativamente ($P \leq 0.05$) las lecturas LRLU de CJATP.”

Tomando como referencia lo citado por Green, se puede decir que el desinfectante también influyó en nuestros resultados obteniendo niveles elevados y bajos de ATP respecto al tiempo (días de muestreo), es decir que el desinfectante puede modificar las lecturas de ATP indicando contaminación o limpieza insuficiente, pero al compararlo con los resultados obtenidos por el método microbiológico sabemos que tipo de ATP encontramos.

Es decir: “El estudio demuestra que la exposición de los componentes de reacción de la bioluminiscencia del ATP directamente a los sanitizadores y limpiadores puede reducir significativamente las mediciones del LRLU, pero de los nueve químicos probados en el presente estudio, el QA fue el único químico que aumento las mediciones LRLU. Se obtuvieron resultados similares para las dos fuentes de ATP (PATP y CJATP) al exponerse a los diferentes químicos”. Green Tracy A. et al, 1999.

CONCLUSIONES

La prueba de bioluminiscencia dentro de los parámetros que establece el kit comercial siempre produjo resultados por arriba de lo esperado indicando que las superficies permanecieron contaminadas, después de los procesos de limpieza y desinfección.

En el presente estudio se obtuvieron los siguientes resultados sustentados en el análisis de varianza:

En cuanto a los días de muestreo seleccionado que fueron martes y jueves, se encontró diferencia significativa ($P < 0.05$), indicando que la prueba de bioluminiscencia detectó que el día jueves fue el que tuvo una buena limpieza y el día martes detectó alto contenido de materia residual, es decir mala limpieza.

En cuanto al factor turno que fueron matutino y vespertino no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$), ya que la prueba determinó la misma cantidad de ATP para el antes del inicio de operaciones y después limpieza.

En cuanto a las superficies a muestrear que fueron mesa de banda móvil de propileno y mesa de trabajo de nylamid, no se encontró diferencia significativa ($P > 0.05$), ya que la prueba de bioluminiscencia detectó la misma cantidad de ATP para ambas superficies; esto indica que tuvieron el mismo grado de limpieza o de suciedad remanente.

Es decir el ATP que detectó la prueba es ATP no microbiano ya que se trata de materia orgánica residual, por lo tanto se puede concluir en cuanto a eficiencia, es decir la efectividad en la aplicación del procedimiento aplicado, que es adecuada, pero que la eficacia está fallando ya que se está detectando materia residual en las superficies de trabajo; o sea que no se está logrando el objetivo de la limpieza.

Comparando los resultados de este estudio con otro paralelo en que se determinaron bacterias, se encontró en un sólo día coincidencia de cuentas bacterianas bajas con la detección de niveles bajos de ATP por bioluminiscencia, en tanto que cuando se determinaron niveles altos de ATP, las cuentas bacterianas permanecieron bajas, lo que permite plantear la hipótesis de que los niveles de ATP encontrados podrían tener su origen en materia orgánica residual, es decir fueron producto de una mala limpieza y no se originaron por la presencia de cantidades importantes de bacterias.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adams MR, Moss MD. Microbiología de los alimentos, Editorial Acribia, Zaragoza España 1997.
2. BioControl Systems, Inc., Lightning MVP (instrucciones de uso), E.U.A., 2002.
3. Ceja V I, Implementación de un método rápido (bioluminiscencia) para la aplicación microbiológica de productos de cuidado oral, (tesis de licenciatura), México (DF), México: FES- CUAUTITLÁN, UNAM, 2003.
4. De Robertis ED, De Robertis EM. Biología celular y molecular, 11^{ma} ed, Editorial El Ateneo, Barcelona México, 1984.
5. Feldman P, Santin C, Etcheverry S. Bioluminiscencia. Argentina, Centro de información sobre alimentos (boletín no. 5), 2001;1:7.
6. Forsythe SJ, Hayes PR. Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP, 2^a ed, Editorial Acribia, Zaragoza España, 2002.
7. Frazier WC, Westhoff DC. Microbiología de los alimentos, 4^a ed, Editorial Zaragoza Acribia, 1993.
8. Fuentes AX, Castiñejas LM. Bioquímica clínica y patología molecular, Vol. 1, Editorial Reverté, 1997.
9. García CE, Evaluación de la eficacia antibacteriana del programa de limpieza y sanitización de la mesa de despiece en una planta empacadora de carnes frías de la Ciudad de México, (tesis de licenciatura), México, (DF), México: FES CUAUTITLÁN, UNAM, 2005. (Sin publicar).
10. González MB, Gómez TM, Jiménez SZ. Bacteriocinas de probióticos, Nuevo León, México. Revista Salud Pública y Nutrición (RESPYN), 2003;4:2:5-10.
11. Gracey JE. Higiene de la carne, 8^a ed, Editorial Interamericana Mcgraw-hill, Madrid; México, 1989.

12. Green TA, Russell SM, Fletcher DL. Effect of chemical cleaning agents and comercial sanitizers on ATP bioluminescence measurements, *Journal of Food Protection*, 1999; 62:1:86-90.
13. Griffiths MW. The role of ATP bioluminescence in the food industry: new light on old problems, *Food Tecnology (Chicago)*, 1996; 50:6:62-72.
14. Hayes PR. *Microbiología e Higiene de los Alimentos*, 1ª ed. Editorial Acribia, España, 1993.
15. Ingraham JL, Catherine A. *Introducción a la microbiología Vol. I*, Editorial Reverté, 1998.
16. International comision on microbiological specifications for foods, (ICMSF). *Ecología microbiana de los alimentos vol. 1. Factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos*, Editorial Acribia, Zaragoza España, 1980.
17. Lacuna OS. *Guía para la elaboración de un plan de limpieza y desinfección de aplicación en empresas del sector alimentario*, Editorial Acibia, Zaragoza España, 2001.
18. Lehninger A. *Las bases moleculares de estructura y función celular*, 2ª ed. Ediciones Omega, Barcelona, 1982.
19. Leveau JY, Bouix M. *Microbiología industrial de los microorganismos de interés industrial*, Editorial Acribia, Zaragoza España, 2000.
20. López LJ. *Diccionario contable administrativo fiscal*, 3ª ed. International Thomson Editores, 2001
21. Moore G, Griffith C. A comparison of tradicional and recently developed methods for monitoring surface hygiene within the food industry: an industry trial, *International Journal of Environmental Health Research*, 2002;12:4: 317-329.

22. Mora, MP, Manual de procedimientos para la desinfección corriente terminal y preventiva aplicable en el centro de producción agropecuaria de la FES-Cuautitlán, (tesis de licenciatura), México (DF), México: FES CUAUTITLÁN, UNAM, 1990.
23. Mossel DA, Moreno B, Struijk C. Microbiología de los alimentos, 2ª ed. Editorial Acribia, Zaragoza España, 2003.
24. Murria RK. Bioquímica de Harper, 15ª ed. Editorial El Manual Moderno, Zaragoza España, 2001.
25. Oulahal-Lagsir N, Martial-Gros A, Bonneau M, Blum LJ, Ultrasonic methodology coupled to ATP bioluminescence for the non-invasive detection of fouling in food processing equipment validation and application to a dairy factory, Journal of Applied Microbiology, 2000;89:3: 433-441.
26. Páez R, Taverna M. Bioluminiscencia en la limpieza de ordeñadoras, Chacra, (suplemento especial tambo).1999;5:3:10
27. Paola S. Diccionario de contabilidad, México 1998.
28. Prändl O, Fischer A. Tecnología e higiene de la carne, Editorial Acribia, Zaragoza España, 1994.
29. Sánchez TJ, Evaluación in vitro de la eficacia de un desinfectante usado en una mesa de despique de una planta empacadora de carnes frías, de la Ciudad de México. Por el método de difusión en disco, (tesis de licenciatura), México (DF), México: FES CUAUTITLÁN, UNAM, 2004.
30. Secretaría de Salud. NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México, D.F. Secretaría de Salud, 1994
31. Secretaría de Salud. NOM-0093-SSA1-1994, Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. México, D.F. Secretaría de Salud, 1995.

32. Secretaría de Salud. NOM-120-SSA1-1994, Bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas. México, D.F. Secretaría de Salud, 1995.
33. Steel RG. Bioestadística: Principios y procedimientos, 2ª ed. Editorial Mcgraw-Hill de México, 1986.
34. Villee CA. Biología, 7ª ed. Editorial Mcgraw-Hill Interamericana de México, 1994.
35. Wildbrett G. Limpieza y desinfección en la industria alimentaria, Editorial Acribia, Zaragoza España, 2000.