

EVALUACIÓN MICROBIOLÓGICA DEL PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE UNA PLANTA PROCESADORA DE PRODUCTOS ALIMENTICIOS AVÍCOLAS DE CARTAGENA-BOLÍVAR, COLOMBIA.

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF CLEANING AND DISINFECTION PROGRAM OF A POULTRY PRODUCTS PROCESSING PLANT IN CARTAGENA-BOLIVAR, COLOMBIA.

Piedad A. Franco Anaya¹, Yulimey Castilla Alcázar², Claudia Guerrero Montes², Ana Luisa Jiménez Oviedo², Mauricio E. Orozco-Ugarriza^{3,4}

Resumen

Introducción: La higiene de las superficies, equipos y utensilios, es la base de las buenas prácticas de manufactura en la industria de alimentos y reduce el riesgo de contaminación microbiológica. **Objetivo General:** Evaluar microbiológicamente el programa de limpieza y desinfección de una planta procesadora de productos alimenticios avícolas de Cartagena-Bolívar, Colombia. **Metodología:** Se realizó una investigación con enfoque cuantitativo, con un diseño de estudio Observacional, Descriptivo y Transversal. Las muestras recolectadas corresponden en ambientes a 80, superficies a 56 y manipuladores a 29. La evaluación se realizó mediante la determinación de la carga microbiológica en ambientes, superficies de contacto y utensilios empleando los indicadores microbiológicos Aerobios mesófilos, Mohos y levaduras y *Salmonella* spp., además se realizó una caracterización microbiológica de las colonias aisladas; El procedimiento de lavados manos en el manipulador se evaluó con los indicadores aerobios mesófilos, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*; Para evaluar los desinfectantes de superficies y manos se realizó la prueba de efectividad antimicrobiana. **Resultados:** Las superficies evaluadas presentaron recuentos elevados de aerobios mesófilos antes de los procedimientos de limpieza y desinfección, que no fueron reducidos eficazmente después de su realización. La superficie de la banda transportadora presentó la mayor carga microbiana después de la sanitización debido a su diseño. No se aisló *Salmonella* spp. En las superficies evaluadas. El lavado de manos fue inadecuado, evidenciado por recuentos de meso-aerobios inaceptables, presencia de *S. aureus* y *E. coli*. Los desinfectantes evaluados inhibieron el crecimiento de *Pseudomonas* spp., *Micrococcus luteus*, aislados en superficies, y *S. aureus* y *E. coli* aisladas en las manos de los manipuladores. **Conclusión:** La evaluación microbiológica indicó un déficit higiénico en los ambientes, superficies y operarios en la planta de producción, sugiriendo la necesidad de reforzar el programa de limpieza y desinfección y la capacitación continua, especialmente en el lavado de manos

Palabras Claves: *Productos Avícolas, Inocuidad de los Alimentos, Desinfección Control de la Contaminación Ambiental, Desinfección de las Manos.*

© 2016 Franco *et al.* Este es un artículo Open Access distribuido bajo la licencia CC BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>). No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, su distribución se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original.

1. Universidad de San Buenaventura, Cartagena (Colombia), Facultad Ciencias de la Salud, Grupo de Investigación Microbiología y Ambiente (GIMA). Dirección: Calle Real de Ternera No. 30-966 - PBX 653 5555 - 653 5530 Ext: 184. Correo Electrónico: piedadfrancoanaya@gmail.com
2. Universidad de San Buenaventura, Cartagena (Colombia), Facultad Ciencias de la Salud, Programa de Bacteriología. Dirección: Calle Real de Ternera No. 30-966 - PBX 653 5555 - 653 5530.
3. Corporación para el desarrollo de la Investigación en Biomedicina & Biotecnología. Grupo de investigación traslacional en Biomedicina & Biotecnología (GITB&B), Cartagena - Colombia.
4. Universidad del Sinú EBZ seccional Cartagena. GIBACUS - Grupo de investigaciones Básicas y Clínicas de la Universidad del Sinú.

Abstract

Introduction: Hygiene of surfaces, equipment and utensils are the basis of good manufacturing practices at food industry and reduces the risk of microbiological contamination. **General Objective:** To evaluate Microbiologically the cleaning and disinfection program of a poultry food processing plant in Cartagena-Bolívar, Colombia. **Methodology:** A research was carried out with quantitative approach, with an observational, descriptive and transversal study design. The collected samples correspond in environments at 80, surfaces at 56 and manipulators at 29. The evaluation was carried out by the determination of the microbiological load in environments, contact surfaces, utensils using the microbiological mesophilic aerobes indicators, moulds, yeasts and *Salmonella* spp., moreover a microbiological characterization of the isolated colonies was done; The procedure of hand washing in the manipulator was evaluated with the mesophilic aerobic indicators, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*; Antimicrobial effectiveness test was performed to evaluate surface and hand disinfectants. **Results:** The evaluated surfaces presented high counts of mesophilic aerobes before cleaning and disinfection procedures, which were not effectively reduced after their completion. The surface of the conveyor belt presented the highest microbial load after sanitization due to its design. *Salmonella* spp was not isolated on the evaluated surfaces. Hand washing was inadequate, evidenced by counts of unacceptable meso-aerobios, presence of *S. aureus* and *E. coli*. The disinfectants evaluated inhibited the growth of *Pseudomonas* spp., *Micrococcus luteus*, isolated on surfaces and *S. aureus* and *E. coli* isolated in the hands of the manipulators. **Conclusion:** The microbiological evaluation indicated a hygienic deficit in the environments, surfaces and operators in the production plant, suggesting the need to reinforce the cleaning and disinfection program and the continuous training, especially at washing hands.

Key Words: *Poultry Products, Food Safety, Disinfection, Environmental Monitoring, Hand Disinfection.*

© 2016 Fraco *et al.* This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License CC BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>). Commercial use of the original work of the possible derivative works is not allowed, its distribution must be done with a license equal to that which regulates the original work.

Recibido para publicación: 16 de Noviembre, 2016 - Aceptado para publicación: 14 de Diciembre, 2016

Introducción

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's) representan un importante problema de salud pública en todos los países (Torrens *et al.*, 2015). En América Latina se acrecienta su importancia, debido a que coexisten un conjunto de factores de riesgo que favorecen su presencia y dificultan su prevención, entre los que se destacan la implementación inadecuada de programas de saneamiento, ausencia de agua potable, acelerada urbanización y cambios en el estilo de vida que llevan a la población cada vez con mayor frecuencia a consumir alimentos elaborados en establecimientos comerciales, con sistemas de calidad de efectividad variable a lo largo de la cadena de producción, que suelen tener condiciones de higiene inadecuadas y fallas en el procesamiento de alimentos, entre otras deficiencias durante la elaboración del producto terminado (Benítez *et al.*, 2014; Flórez, Rincón, Garzón, Vargas, & Enriquez,

2008; Mejía Aguero, 2015; Soto Varela, Pérez Lavalle, & Estrada Alvarado, 2016)

En la actualidad existe un marco normativo amplio tanto a nivel internacional como nacional aplicable al sector productivo de los alimentos avícolas, orientado a garantizar la calidad e inocuidad de los productos elaborados para el consumo humano, entre las que se destacan los productos cárnicos en general, en especial los avícolas por ser alimentos ricos en nutrientes, por tanto, en un establecimiento dedicado a la producción o comercialización de este tipo de alimentos es fundamental la correcta implementación de un programa de limpieza y desinfección para mantener buenas condiciones higiénico sanitarias (Lezaca, Guio, & Gómez, 2013; Mosquera, Alemán, & Villada, 2007).

En coherencia con lo anterior, las empresas del sector productivo avícola, deben garantizar la inocuidad

y calidad del producto que llega al consumidor final, mediante la limpieza y desinfección de las instalaciones, maquinaria, equipos, utensilios de trabajo, personal manipulador, etc (Galindo, 2005; Laínez, Hernandis, & Marín, 2008); lo cual constituye una importante medida de control, que además resulta necesaria para una adecuada prevención de los riesgos de contaminación cruzada a los alimentos, acorde con el decreto 3075 del 1997 y las modificaciones realizadas enmarcadas en la resolución 2674 de 2013 del Ministerio de Salud y de la protección Social que reglamenta las condiciones básicas de higiene en la fabricación de los alimentos y establece en el artículo 29, que toda empresa procesadora de alimentos debe poseer un plan de saneamiento que incluye los programas de limpieza y desinfección (INVIMA, 1997).

Dichas actividades deben ser evaluadas periódicamente mediante el análisis microbiológico de ambientes, superficies y personal manipulador con el fin de corroborar que las operaciones de limpieza y desinfección han sido realizadas correctamente y que las instalaciones han quedado suficientemente limpias, (física y microbiológicamente) para prevenir la exposición de la materia prima o el producto final a contaminación cruzada por contacto o manipulación (Burguet Lago, Brito Godoy, & Cánovas Borges, 2013; Torres *et al.*, 2002). Sin embargo, existen factores que suelen contribuir a que las actividades de limpieza y desinfección llevadas a cabo en la industria alimentaria sean deficientes, entre los que se destacan la implementación de protocolos de limpieza y desinfección sin considerar su estandarización según la concentración, dosis, tiempo y modo de empleo; así como el tratamiento especial que debe suministrarse de acuerdo al tipo de maquinaria o equipo utilizado, la capacitación a operarios, la existencia de maquinaria o equipos que por su anatomía mecánica no pueden ser higienizados adecuadamente (Taboada, Sanchez, Cava, Marin, & Lopez, 2007); finalmente la ausencia de monitoreo continuo sobre estas operaciones, que permitan identificar puntos críticos de control y evaluar prácticas durante la ejecución de las mismas, y además, evaluar la efectividad de los desinfectantes usados (Burguet Lago *et al.*, 2013; Maldonado & Delgado, 2011).

La implementación inadecuada del programa de limpieza y desinfección en la industria alimentaria, pueden dar lugar a la presencia de contaminación microbiana en ambientes y superficies de las áreas de proceso,

debido a la colonización por microorganismos que no se estén eliminando de forma efectiva (Burguet Lago *et al.*, 2013; Torres *et al.*, 2002). Aunado a estos hechos, la suciedad de carácter orgánico e inorgánico dejados en un equipo o superficie de contacto con alimentos provee un medio en el cual se pueden adherir una cantidad variable de microorganismos y formar biopelículas (Cartón, Iranzo, Navarro, & Tormo, 2011); que conjuntamente, les proporcionan nutrientes que favorecen su desarrollo y proliferación, lo que impide la fácil remoción de éstos, incluso en la fase de desinfección pues la acción microbiana de la mayoría de los desinfectantes se ve obstruida por la presencia de tales materiales (Navia, 2010). Otros aspectos a considerar son las prácticas higiénicas de los manipuladores y la posible condición de portador asintomático de microorganismos patógenos por parte de alguno de ellos (Franco Anaya, Duran Sierra, Mendoza Herrera, & Orozco-Ugarriza, 2016).

Dichas situaciones pueden traer como consecuencia la contaminación de los alimentos durante el proceso de elaboración, siendo entonces no aptos para el consumo humano, lo que se constituye como un problema serio para la industria alimentaria, no sólo por las pérdidas económicas que esto representa, sino también por la posibilidad de ocasionar enfermedades en el consumidor o intoxicación alimentaria.

El objetivo de la presente investigación consistió en Evaluar Microbiológicamente el programa de limpieza y desinfección de una planta procesadora de productos alimenticios avícolas de Cartagena-Bolívar, Colombia, con el propósito de determinar la efectividad del programa y elaborar recomendaciones frente a las no conformidades identificadas, para así contribuir con la calidad del producto final.

Metodología

Se realizó una investigación con enfoque cuantitativo, con un diseño de estudio observacional, descriptivo y transversal. La investigación se desarrolló en una Planta Procesadora de Productos Alimenticios avícolas de Cartagena-Bolívar, Colombia.

Población y muestra

La empresa objeto de estudio consta de diferentes secciones o zonas de labores, de las cuales para efectos del presente trabajo se seleccionaron las secciones de despresado, menudencia y empaque, debido a que éstas completan los procesos que se realizan desde el colgado del canal post-enfriado hasta su empaque. Previamente las aves han sido evisceradas y lavadas para reducir la carga microbiana y es en éstas áreas donde es necesaria una mayor prevención de la contaminación del alimento al contactar con las superficies de procesado y/o personal manipulador.

Las áreas evaluadas corresponden a:

- » Ambientes de las secciones de despresado, menudencia y empaque.
- » Superficies que contactan directamente con los productos alimenticios procesados.
- » Cuchilla de máquina despresadora.
- » Tobogán.
- » Banda Transportadora.
- » Embudo de empaque.
- » Mesa de fileteado.

Prueba de efectividad antimicrobiana de los desinfectantes empleados en la planta:

- » Hipoclorito de sodio 13%.
- » Biquat © (amonio cuaternario).
- » Bactydán © (jabón para el lavado de manos).

Para la evaluación de ambientes y superficies, se llevó a cabo la toma de muestra antes y después de realizado el proceso de limpieza y desinfección, en cuatro (4) momentos diferentes (2 veces por semana durante 2 semanas). En conformidad con lo establecido por las normas de la Comunidad Económica Europea, decisión de la comisión 8/6/01 se debe evaluar cada área comprendida por 100 cm², lo cual varía al evaluar grandes extensiones, en las que deben tomarse de 3 a 5 muestras. Para conocer los puntos a muestrear fue necesario hacer una relación aproximada de acuerdo a las extensiones de las secciones evaluadas, así:

- » Sección de despresado: 4m² = 4 muestras.
- » Sección de menudencia: 3m² = 3 muestras.
- » Sección de empaque: 3m² = 3 muestras.

Para la evaluación microbiológica de superficies se cumplen los criterios mencionados en el punto anterior que hacen referencias a la evaluación de ambientes. De tal forma que para conocer las áreas a muestrear se hizo una relación aproximada de acuerdo a las extensiones de las superficies evaluadas, así:

- » Cuchilla de máquina despresadora: 1 muestra.
- » Tobogán: 1 muestra.
- » Banda transportadora: 3 m = 3 muestras.
- » Embudo de empaque: 1 muestra.
- » Mesa de fileteado: 1 m = 1 muestra.

Análisis de manipuladores: a partir del universo de manipuladores que está constituido por 50, se tomó una muestra representativa a través de un cálculo probabilístico considerando que la población evaluada es finita correspondiente a 29 y de esta se obtuvo el número de manipuladores evaluados por cada sección a través de un muestreo aleatorio estratificado por asignación proporcional. La selección de los respectivos manipuladores de cada sección evaluada se realizó al aleatoriamente.

Finalmente, para la realización del estudio el total de muestras recolectadas corresponden en ambientes a 80 muestras (10 muestras antes y después de realizado el proceso de limpieza y desinfección en los 4 momentos establecidos), en superficies a 56 muestras (7 muestras antes y después de realizado el proceso de limpieza y desinfección en los 4 momentos establecidos) y a manipuladores un total de 29 operadores distribuidos de la siguiente forma: Sección de despresado: 14 manipuladores, Sección de menudencia: 5 manipuladores y Sección de empaque: 10 manipuladores.

Recolección, Transporte y Procesamiento de las Muestras

Evaluación de ambientes: para la evaluación de la calidad microbiológica del ambiente en las secciones de trabajo, se utilizó el método de sedimentación en placa, para el recuento de microorganismos aerobios mesófilas, mohos y levaduras. Teniendo en cuenta el número de muestras a tomar, se colocó una caja de agar Patata Glucosa y una caja de agar Plate Count (Merck®) expuestas al ambiente en cada punto a analizar durante 30 minutos. Se incubaron las cajas de Patata Glucosa a temperatura ambiente durante 3 – 5 días y las cajas de Agar Plate Count a 35 ± 2°C, durante 48 horas. Pasado

el tiempo de incubación, se realizaron los recuentos y se expresaron los resultados en Unidades Formadoras de Colonias por 30 minutos de exposición (UFC/30 minutos).

Análisis de superficies: Conocidos los puntos a analizar por cada superficie, se tomaron las muestras empleando una plantilla estéril para lograr una mayor exactitud, para la evaluación de la calidad microbiológica de las superficies en las secciones de trabajo, se utilizó el método de siembra masiva en superficie de Agar Plate Count. Para la recolección de la muestra se humedeció un escobillón estéril con Caldo Peptona (Merck®) al 0.1%, con lo cual se facilita la recuperación del mayor número de microorganismos al frotar en forma de zig-zag la superficie a analizar. Se Incubó 48 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Posteriormente, al tiempo de incubación, se realizaron los recuentos y se expresaron en Unidades Formadoras de Colonias por cm^2 (UFC/ cm^2).

Como soporte para estipular los valores de referencia para este tipo de superficies limpias y desinfectada, se tuvo en cuenta la norma de la Comunidad Económica Europea, decisión de la comisión 8/6/01. Estableciendo como parámetro indicador Aceptable de 0-50 UFC/ cm^2 e inaceptable >50 UFC/ cm^2 .

También se realizó la búsqueda del patógeno *Salmonella* sp, teniendo en cuenta que los productos avícolas son reservorios de este tipo de microorganismo. Para esta búsqueda se empleó una pinza previamente esterilizada, se tomó una gasa estéril y se procedió a frotar un área definida de una superficie seleccionada. Terminado el arrastre, se depositó la gasa en un frasco con contenido de 50 mL de caldo lactosa (Merck®). Se incubó a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Después de incubar, se hizo enriquecimiento selectivo pasando 1 mL de cultivo enriquecido a un tubo con contenido de caldo tetrionato-bilis-verde brillante (Müller Kauffmann), se incubó a $43 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 24 horas. Pasado el tiempo de incubación se sembró en placas con agar XLD (xylose-lysine deoxycholate Merck®), por agotamiento en superficie y se incubaron a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. En este medio las colonias típicas de *Salmonella* se caracterizan por ser: incoloras, de un color intermedio entre rosa y fucsia o entre translúcidas y opacas, y el medio que las rodea varía de rosáceo a rojo; Esto se debe a que *Salmonella* no fermenta lactosa ni sacarosa. Si aparecen colonias verdes amarillentas

significan que son lactosa positiva o sacarosa positiva, que corresponde a otros patógenos como *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella* y otros.

Una vez incubadas las placas de XLD (xylose-lysine deoxycholate Merck®), se observan los cultivos y se seleccionan una o varias colonias típicas de *Salmonella* para verificar bioquímicamente mediante el sistema BBL Crystal para entérico No fermentadores (bioMérieux®).

Evaluación de la carga microbiológica en manos de los manipuladores.

Determinación de *Escherichia coli* en manos: después del lavado de manos por parte del manipulador con un hisopo estéril se procedió a girar en la parte externa de las uñas del operario y se colocó el hisopo en un tubo con contenido de caldo lactosa e incubo a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24-48 horas. Después del periodo de incubación, se tomó del caldo lactosa una asada y se realizó el test de Mackenzie: sembrando 50 ul en caldo Brilla (Merck®) y Caldo Triptona (Merck®), y se incubo a 45°C por 24-48 horas.

Se considera positivo para Coliformes fecales si hay producción de gas e indol. De estos cultivos positivos se siembran en agar Eosina Azul de Metileno - EMB (Merck®) para búsqueda e identificación de *Escherichia coli* mediante el sistema BBL Crystal para entérico No fermentadores

- » Informe de resultados:
- » Aceptable: Negativo.
- » Inaceptable: Positivo.

Determinación de *Staphylococcus aureus* en manos: después del lavado de manos por parte del manipulador se frotó un hisopo estéril en los dedos, uñas y palmas de la mano del operario. Inmediatamente se extendió el hisopo realizando de forma masiva la siembra en la superficie del agar Baird Parker (Merck®). Incubar 48 horas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Posteriormente, se seleccionaron las colonias compatibles con *Staphylococcus aureus* colonias negras, lustrosas, convexas, 1 a 5 mm de diámetro, con borde estrecho blanquecino (debido a la reducción de telurito a telurio), rodeado por un halo claro de 2 a 5 mm de anchura. Dentro del halo claro presencia de anillos opacos

no visibles antes de las 48 horas de incubación (lipólisis y proteólisis); y se repicaron en tubos con contenido de 5 mL de caldo Infusión Cerebro Corazon - BHI (Merck®). Incubando 24 horas a 37°C.

Se realizó prueba de coagulasa a partir de la adición 0.2 mL de caldo BHI repicado y 0.2 mL de plasma humano e incubo de 1 a 4 horas.

Además, se montaron controles:

- » Control Positivo: 1 cepa de *Staphylococcus aureus*. coagulasa positivo ATCC 6538P y 0.2 mL de plasma.
- » Control Negativo: 0.2 mL de plasma.
- » Lectura:
 - Coagulasa Positiva: formación de coágulo.
 - Coagulasa Negativa: ausencia de coágulo.
- » Informe de resultados:
 - Aceptable: Negativo.
 - Inaceptable: Positivo.

Determinación de la efectividad en la desinfección de manos de los manipuladores: Posteriormente, al procedimiento de lavado de manos por parte del operario, con un hisopo estéril se frotó en los dedos, uñas y palmas de la mano del operario, el cual se extendió en la superficie del agar plate count, mediante la técnica de siembra masiva. Se incubó 24-48 horas a 35±2°C. Pasado el tiempo de incubación se realizó el recuento de aerobios mesófilos y se reportó el número de microorganismos.

- » Aceptable: menor de 10 UFC (Unidades Formadoras de Colonias).
- » Inaceptable: mayor de 10 UFC (Unidades Formadoras de Colonias).

Valores de referencia establecidos por el Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos de la Universidad de San Buenaventura.

Prueba de efectividad antimicrobiana de los desinfectantes empleados en la planta: Inicialmente fue necesario caracterizar microbiológicamente los microorganismos predominantes en ambientes y las superficies evaluadas tanto antes como después de realizado el proceso de limpieza y desinfección. Posteriormente, se tomó una muestra de cada uno de los agentes químicos

empleados en la planta procesadora objeto de estudio para realizar la desinfección. Atendiendo a las concentraciones utilizadas en la empresa, se prepararon las diluciones respectivas de cada desinfectante, así:

1. Hipoclorito de sodio (NaClO) al 13%: A partir de la concentración estandarizada comercialmente se diluyó 2 mL de hipoclorito en 1000 mL de agua de chorro para obtener una solución de 260 ppm.
2. Biquat® al 10%, a partir de la concentración inicial se diluyó 2 mL de Biquat en 1000 mL de agua de chorro para obtener una solución de 200 ppm.
3. Bactydan®: no fue necesario diluir puesto que éste se utiliza a la concentración estandarizada comercialmente.

A partir de cada uno de los aislados obtenidos de las muestras superficies se preparó una suspensión en caldo BHI a 0.5 en la escala de Mac Farland. Posteriormente, se pasó 1 mL de las diluciones de los desinfectantes a los tubos estériles, adicionado 0.1 mL de las suspensiones de los aislados microbianos, se pone en marcha la corrida del tiempo mediante el cronómetro, se mezcló y realizó repiques en Agar Plate Count a los 30 segundos, 5, 10 y 15 minutos y se incubó por 24 horas a 35±2°C. Este procedimiento fue efectuado con cada uno de los desinfectantes evaluados con los aislados microbianos.

Para la evaluación del Bactydan® se pasó 1 mL del jabón a tubos estériles, adicionando 0.1 mL de las suspensiones de *E. coli* y *S. aureus*, se inició el cronometro, mezcló y se realizó repiques en agar Plate Count a los 10, 20 y 30 segundos, y se incubó por 24 horas a 35±2°C. La lectura se realizó a partir de la determinación de la inhibición del crecimiento microbiano en los tiempos de exposición.

Teniendo en cuenta que en la planta evaluada hacen una rotación mensual de los desinfectantes empleados en el proceso de limpieza y desinfección, el cronograma de muestreo se distribuyó de la siguiente forma: la primera semana evaluada corresponde al uso de Hipoclorito de sodio y la segunda semana, al uso de Biquat®.

Validación de los resultados

Para garantizar la validez de los resultados se tuvo en cuenta los parámetros de desempeño de la norma NTC-ISO/IEC 17025:2005, en ese caso cada desinfectante diluido y sin diluir se sembró con el fin de descartar contaminación de los mismos, lo cual fue corroborado al no obtener crecimiento microbiano después de 24 horas de incubación a $35\pm 2^\circ\text{C}$. Para todos los medios de cultivo, una vez preparados una muestra de cada lote se incubó sin siembra previa a 37°C por 24 horas, las cuales fueron revisadas a las 24 horas sin obtener crecimiento microbiano, descartando contaminación de los mismos.

Así mismo, para verificar la sensibilidad y especificidad de los medios de cultivos utilizados para los ensayos se emplearon cepas de colección americana (ATCC). Las cepas de referencia, fueron adquiridas por el laboratorio de control de calidad de los alimentos de la Universidad de San Buenaventura, de la casa comercial Microbiológicos. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P para validar agar Baird Parker; *Escherichia coli* ATCC 25922 agar EMB y *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *typhimurium* ATCC 14028 agar XLD (xylose-lysine deoxycholate Merck®).

Análisis y representación gráfica de los datos

Los resultados obtenidos de los distintos análisis fueron organizados y analizados en tablas y gráficas para su mejor comprensión. Para el análisis de ambientes y superficies se realizó un promedio de los recuentos obtenidos, teniendo en cuenta el número de muestras tomadas durante la primera y segunda semana de muestreo.

Resultados

Los recuentos de microorganismos indicadores aerobios mesófilos realizados en el ambiente de las diferentes secciones evaluadas de la planta en estudio, muestran una disminución de la carga microbiológica ambiental después del proceso de limpieza y desinfección tanto en la primera como en la segunda semana de muestreo, a excepción de la sección de empaque en donde los recuentos elevados (> 300 UFC/30 min) se mantuvieron en la segunda semana de evaluación (Ver Gráfico 1).

Los recuentos de mohos y levaduras realizados en ambientes, denotan una disminución del número de UFC/30 min de exposición, de estos microorganismos después de realizado el proceso de limpieza y desinfección tanto en la primera como en la segunda semana de muestreo (Ver Gráfico 2).

Los recuentos de microorganismos aerobios mesófilos realizados en las superficies seleccionadas de la planta objeto de estudio antes de realizado el proceso de limpieza y desinfección reportaron cargas microbianas elevadas (>300 UFC/cm²), las cuales no fueron reducidas eficazmente después de efectuados tales procesos en dichas superficies; a excepción de la cuchilla de la máquina despresadora (6 UFC/cm²) y el tobogán (47 UFC/cm²) que solo en la segunda semana de muestreo se obtuvo recuentos dentro de los valores aceptables (0 – 50 UFC/cm²) establecidos por el laboratorio de la Universidad de San Buenaventura, acordes a las normas de la Comunidad Económica Europea (decisión de la comisión de 8/6/01, DOCE 21/6/01). Además, se pudo observar que la banda transportadora fue la superficie que presentó la mayor contaminación después de la limpieza y desinfección (Ver Gráfico 3).

En relación a la búsqueda de *Salmonella* spp, no se aisló en ninguna de las superficies evaluadas durante los dos momentos de muestreo y las etapas de limpieza y desinfección.

En el análisis del personal manipulador, los recuentos de microorganismos aerobios mesófilos (Ver Gráfico 4) después del lavado de las manos, resultaron inaceptables en el 100% de los operadores de cada una de las secciones evaluadas en la planta objeto de estudio, los recuentos superaron el valor de referencia aceptable (0 – 10 UFC) establecido por el Laboratorio de Control de Calidad de La Universidad de San Buenaventura.

El 100% de los manipuladores evaluados en la sección de despresado resultó negativo en la búsqueda de *Staphylococcus aureus* en las manos después del lavado, mientras que el 20% de los manipuladores pertenecientes a la sección de menudencia resultó positivo en la identificación de tal microorganismo y el 80% restante fue negativo.

En la sección de empaque, el 60% de los manipuladores resultó negativo y el 40% restante, positivo; siendo este último el mayor porcentaje positivo en comparación con las demás secciones evaluadas (Ver Gráfico 4).

El 57% de los manipuladores evaluados en la sección de despresado resultó negativo en la búsqueda de *E. coli* en las manos después del lavado de éstas y el 43% restante resultó positivo; mientras que el 80% de los manipuladores pertenecientes a la sección de menendencia resultó negativo en la identificación de *E. coli* y el 20% restante fue positivo. En la sección de empaque, el 70% de los manipuladores resultó negativo y el 30% restante, positivo (Ver Gráfico 4).

Los ensayos realizados para evaluar la efectividad de los desinfectantes empleados en planta procesadora objeto de estudio arrojaron los siguientes resultados:

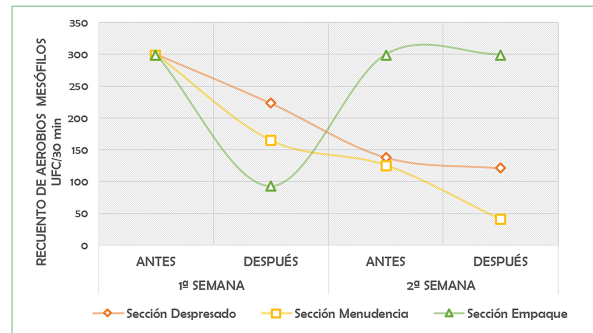
El NaClO a 260 ppm solo es efectivo frente a *Pseudomonas* spp. a partir de los 10 minutos de exposición, no siendo capaz de inhibir el crecimiento de *Chryseobacterium indologenes*, *Stenotrophomonas maltophilia* y *Micrococcus luteus* en un tiempo máximo de 15 minutos de exposición, que es el tiempo de actuación establecido en el protocolo de limpieza y desinfección de la planta evaluada (Ver Tabla 1).

El Biquat® a 200 ppm es efectivo frente a *Pseudomonas* spp. a partir de los 5 minutos de exposición y frente a *M. luteus* a partir de los 15 minutos de exposición, no siendo capaz de inhibir el crecimiento de *C. indologenes* y *S. maltophilia* en un tiempo máximo de 15 minutos de exposición, que es el tiempo de actuación establecido en el protocolo de limpieza y desinfección de la planta evaluada (Ver Tabla 1).

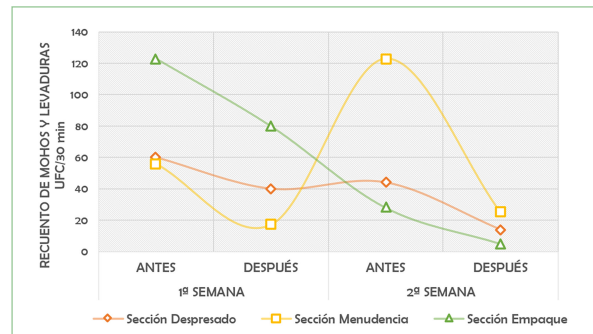
Los ensayos realizados para evaluar la efectividad del jabón utilizado en la planta procesadora objeto de estudio para el lavado de manos del personal manipulador arrojaron los siguientes resultados:

El Bactydan® es efectivo para inhibir el crecimiento *S. aureus* y *E. coli* a partir de los 30 segundos, que es el tiempo de actuación establecido en el protocolo de la planta evaluada. Lo cual lleva a concluir que las prácticas higiénicas deficientes del personal manipulador y el no cumplimiento a cabalidad del protocolo de lavado de

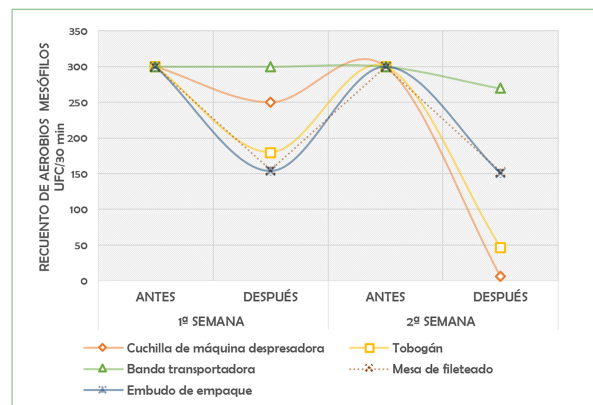
manos, son los responsables de los recuentos de aerobios mesófilos elevados y la persistencia de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Ver Tabla 2).



Gráfica-1: Carga microbológica de Aerobios mesófilos en ambientes de cada una de las secciones de la planta procesadora, antes y después del proceso de limpieza y desinfección, durante el periodo de muestreo.



Gráfica-2: Carga microbológica de Mohos y levaduras en ambientes de cada una de las secciones de la planta procesadora, antes y después del proceso de limpieza y desinfección, durante el periodo de muestreo.



Gráfica-3: Carga microbológica de Aerobios mesófilos en las superficies de contacto evaluadas en cada una de las secciones de la planta procesadora, antes y después de la limpieza y desinfección, durante el muestreo.

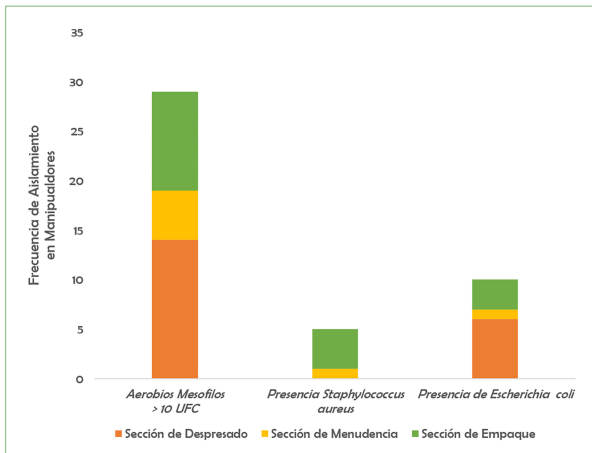


Grafico 4: Recuento de Aerobios mesófilos, presencia de *S. aureus* y *E. coli* en las manos de los manipuladores de las secciones evaluadas de la planta procesadora en estudio, después del lavado.

Tabla-1: Efectividad de los desinfectantes de superficies empleados en la planta de producción frente a los microorganismos* *C. indologeznes*, *Pseudomonas spp.*, *S. maltophilia*, *M. luteus* según el tiempo de exposición y concentración del desinfectante**.

Microorganismo	Tiempo de Exposición del Desinfectante							
	Hipoclorito de Sodio 260ppm				BIQUAT® A 200 ppm			
	30 Seg	5 Min	10 Min	15 Min	30 Seg	5 Min	10 Min	15 Min
<i>C. indologenes</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<i>Pseudomonas spp</i>	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<i>S. maltophilia</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<i>M. luteus</i>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
	Positivo (Crecimiento)							
	Negativo (inhibición del crecimiento)							

* Microorganismos aislados a partir de las superficies evaluadas en la planta de producción en las secciones de: Sección de despresado, Sección de menudencia, Sección de empaque y las superficies de contacto evaluadas.

** Concentración y tiempo de aplicación estandarizados en el protocolo de limpieza y desinfección de la planta de producción.

Tabla 2: Efectividad del jabón utilizado para el lavado de manos del personal manipulador frente a *S. aureus* y *E. coli* según el tiempo de exposición.

Microorganismo	Tiempo de Exposición del Desinfectante		
	BACTYDAN *		
	10 Seg	20 Seg	30 Seg
<i>S. aureus</i>	Positivo	Positivo	Positivo
<i>E. coli</i>	Positivo	Positivo	Positivo

Discusión

La evaluación de las condiciones higiénicas de ambientes, superficies y manipuladores de alimentos de la planta de producción objeto de estudio, se realizó a través del muestreo de tres secciones: Sección de despresado, Sección de menudencia, Sección de empaque y las superficies de contacto evaluadas fueron: Cuchilla de maquina despresadora, Tobogán, Banda transportadora, Embudo de empaque, Mesa de fileteado, para dar cumplimiento a las exigencias establecidas en el Decreto 3075 de 1997 y resolución 2674 de 2013 del ministerio de Salud y Protección social. La evaluación del riesgo microbiológico asociado con el ambiente de procesamiento de la materia prima de estas secciones, se realizó por el método pasivo, consistente en el método de sedimentación sobre placa de agar, con un tiempo de exposición no mayor a cuatro horas. Los recuentos obtenidos demuestran que el proceso de limpieza y desinfección reduce en un 67 % la carga microbiológica ambiental, tanto en la primera como en la segunda semana de muestreo, a excepción de la sección de empaque en donde los recuentos se mantuvieron elevados (> 300 UFC/30 min) en ambos momentos de muestreo.

En relación al recuento de mohos y levaduras, el proceso de limpieza y desinfección fue eficiente al reducir considerablemente la carga después de realizado dichos procesos en ambos momentos. Además, los niveles disminuidos de microorganismo ambientales, principalmente de aquellos géneros tradicionalmente asociados al polvo y suelo como hongos filamentosos indican una elevada eficacia de los sistemas de filtración de aire y de los procedimientos de limpieza y desinfección (Bottale, Riera, & Rabinovitch, 2015; Torres et al., 2002).

La evaluación del riesgo microbiológico asociado con superficies que entran en contacto con la materia prima de estas secciones, se realizó de acuerdo con el indicador convencional de higiene de superficies más utilizado en la industria de alimentos propuesto por Brown y Baird-Parker (1982) el recuento de microorganismos viables totales, recomendando como valor de referencia 10 UFC/ cm². Otros referentes en el área proponen el uso de valores de referencia entre 40 y 50 UFC / cm² para la evaluación de las condiciones higiénicas en establecimientos de procesamiento de productos cárnicos. En este estudio los valores de referencia establecidos fueron 0-50 UFC/cm². Los resultados obtenidos en esta investigación se apartan significativamente de los valores de referencia anteriormente propuestos, las secciones evaluadas antes y después del procedimiento de limpieza y desinfección reportaron cargas microbianas elevadas (>300 UFC / cm²), a excepción de la cuchilla de la máquina despresadora (6 UFC / cm²) y el tobogán (47 UFC / cm²) que solo en la segunda semana de muestreo después del procedimiento de limpieza y desinfección los recuentos estuvieron dentro de los valores aceptables (0 – 50 UFC / cm²). Las bacterias aerobias mesófilas, como grupo (es decir, las que crecen en placa de agar a 30-37°C), pueden ser consideradas generalmente como organismos indicadores, la presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que pueden haberse dado condiciones favorables o la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal. Por lo anterior un recuento alto o bajo de estos, significa procedimientos de higiene deficientes u óptimos según sea el caso (Torres *et al.*, 2002).

Además, se pudo observar que la banda transportadora fue la superficie de contacto que presentó la mayor contaminación después de la limpieza y desinfección, posiblemente estos recuentos se deben a la dificultad relacionada con las características de diseño del equipo que dificultan la efectividad de este procedimiento (Taboada *et al.*, 2007).

Cabe resaltar que no se aisló *Salmonella* spp. en las superficies analizadas, antes y después de los procesos de sanitización. Siendo *Salmonella* habitualmente aislada en los productos avícolas, la ausencia de este patógeno antes de la limpieza y desinfección supone que, en estos animales criados en los galpones, la inspección sanitaria

por parte del personal competente es eficaz. Así mismo asegura las condiciones higiénicas en el proceso y elaboración de los alimentos de origen cárnico (Láinez *et al.*, 2008).

En concordancia con los resultados de esta investigación, Salas *et al.* (2009), realizó un estudio donde comparó diferentes técnicas de muestreos microbiológicos para evaluar un programa de limpieza y desinfección, siendo necesario muestrear las superficies y establecer los niveles residuales de contaminación. Se evaluaron superficies en una industria alimentos deshidratados con un programa de higienización completo y en un supermercado con un tipo de higienización similar al empleado en el ámbito doméstico. En dicho estudio se obtuvo altos recuentos a partir de los discos de acero inoxidable, adheridos a las superficies durante una semana. En la industria de alimentos deshidratados, las metodologías que seguidamente detectaron mayores recuentos fueron: la siembra del disco y el análisis de bioluminiscencia para la detección de ATP; mientras que en el supermercado fueron: el método de hisopado convencional y el análisis de bioluminiscencia para la detección de ATP. Conjuntamente, en ambas instalaciones se establecieron límites críticos estandarizados para cada metodología evaluada. Mientras que, en el supermercado, la presencia de patógenos como *Salmonella* spp., *L. monocytogenes* y *S. aureus* (coagulasa positiva) fue negativa y el recuento de enterobacterias obtenido fue muy bajo (<1 UFC/cm²). Además, se adaptó el método de PCR en tiempo real como control de patógenos como *S. Typhimurium* y *L. monocytogenes* en superficies de acero inoxidable en condiciones experimentales.

Para el caso de los personal manipulador evaluado, se considera que las especies del género *Staphylococcus* spp. y otros cocos Gram-positivos son residentes habituales de la piel y mucosas, por tanto son los microorganismos aislados con mayor frecuencia en los ambientes de la sección de producción, demostrando la importancia de la vestimenta, su técnica de colocación y el entrenamiento continuo del personal que desarrolla actividades críticas (López Gutiérrez, Bettin, Suárez, & Orozco-Ugarriza, 2016); de acuerdo con Bottale *et al.*, (2015) en la sección de producción los géneros *Staphylococcus* spp. y *Micrococcus* spp. se encuentran entre los tres principales grupos de microorganismos de mayor incidencia en esta área y tienen origen en los operarios.

De acuerdo con Franco Anaya *et al.*, (2016), Es posible, que la vestimenta utilizada por el personal, no esté actuando en su función de barrera de forma eficiente. Los resultados obtenidos del monitoreo microbiológico ambiental y de la indumentaria estéril, y el entrenamiento continuo del personal en la técnica de colocación de vestimenta es sin duda una oportunidad de mejora para la realización de técnicas asépticas. Los desinfectantes probados mostraron en general, un alto nivel de eficacia, lo que indica que los desinfectantes son óptimos para los procesos de desinfección, aunque el hipoclorito de sodio no mostró un buen comportamiento frente a *C. indologenes*, *S. maltophilia* y *M. luteus* en los tiempos expuestos de acuerdo a las indicaciones de la empresa, por lo que se requiere reevaluar la utilización de este tipo de producto o revisar los procesos de limpieza, eliminando la materia orgánica que influye en la inactivación de los compuestos clorados. De acuerdo con Both *et al.*, (2009) propone que la eficacia del hipoclorito de sodio frente a *S. aureus* requiere una concentración al menos de una solución de 200 ppm de cloro residual libre, tiempo de exposición mayor a 30 minutos y niveles de residuos orgánicos inferiores al 1%. Frente a esta desventajas, alternativamente Maldonado *et al.*, (2011), proponen el uso de desinfectantes elaborados a base de ácidos orgánicos Lonlife (compuesto activo a base de ácido cítrico, ácido ascórbico y ácido láctico), composición que demuestra ser efectiva en las condiciones de ensayo evaluadas alcanzando un porcentaje de inhibición para del 100% para *E.coli* a 500, 600 y 1200 ppm a los 5, 10, 15, 30, 1 hora y 2 horas.

Finalmente, es coherente declarar las limitaciones de este estudio, en relación a la metodología de recuento en placa para la evaluación de la higiene de las superficie de contacto y el método de sedimentación en placa para la calidad del ambiente, que muy a pesar de ser metodologías ampliamente aceptadas por los entes reguladores y la industria de alimentos, aportan a los resultados con cierto margen de error y variabilidad, que afectan la sensibilidad, especificidad y precisión, comparándolos con los métodos actualmente disponibles en el mercado como el método de bioluminiscencia de ATP, adecuado para la evaluación de las condiciones higiénicas de superficies, debido a que permite detectar tanto microorganismos viables como residuos de alimento y los resultados del ensayo se obtienen en forma inmediata, sin embargo estudios experimentales posteriormente

demonstraron que el tipo de agente de limpieza y el desinfectante puede afectar la reacción de bioluminiscencia de ATP, ya sea aumentando o disminuyendo las unidades lumínicas (Cartón *et al.*, 2011). Por tanto, es recomendable tener en consideración los productos cuando se realice el monitoreo de la higiene por este principio; por otro lado, es importante considerar la utilización método volumétrico por impacto sobre placa con agar, que consiste en impactar un volumen determinado de aire sobre un medio de cultivo sólido (Bottale *et al.*, 2015), aunque es un método más costoso en cuanto a material, mantenimiento, formación del analista y su presencia durante el muestreo, por lo que, en el ambiente, se incluyen variables distintas a las habituales en tiempo real, disminuye el tiempo de recolección de la muestra y se precisa el recuento de UFC en volumen de aire filtrado.

Sin embargo, el método tradicional de recuento de microorganismos viables totales es una herramienta útil para la verificación del correcto funcionamiento del método de monitoreo de las condiciones higiénicas (Bottale *et al.*, 2015). Por tanto, el método tradicional no debe ser descartado como método de evaluación de las condiciones higiénicas, a pesar de la disponibilidad de nuevas alternativas metodológicas y en caso de transitar a las nuevas tecnologías, debe ser considerado como un complemento de estos métodos.

Conclusiones

En las superficies evaluadas se presentaron recuentos elevados de aerobios mesófilos antes de los procedimientos de limpieza y desinfección, que no fueron reducidos eficazmente después de realizados dichos procedimientos. Particularmente la superficie de contacto asociada a la banda transportadora presentó la mayor carga microbiana después de la limpieza y desinfección debido a sus características de diseño. En el personal manipulador se evidenció un lavado de manos inadecuado, evidenciado por los recuentos de aerobios mesófilos inaceptables, persistencia de *S. aureus* y *E. coli*. Los desinfectantes empleados en planta no inhibieron el crecimiento de todas las bacterias evaluadas en la prueba de efectividad, exceptuando a *Pseudomonas spp.* y *M. luteus*.

Por tanto, es necesario evaluar los desinfectantes de forma periódica y frente a diferentes tipos de microor-

ganismos, para detectar a tiempo la presencia de cepas con perfiles de resistencia a los desinfectantes y comprobar frente a ellos su efectividad con el fin de valorar la necesidad de realizar o no rotación. Así mismo, es importante el estudio previo de la microflora que se encuentra en la superficie de los equipos o maquinaria de habitual limpieza y desinfección en la planta de producción, para identificar la presencia de microorganismos que representen un riesgo potencial en el producto que se va a fabricar, en caso de aislar alguna especie indicadora de contaminación o potencialmente patógena para el consumidor final, se ha de realizar un estudio de los desinfectantes utilizados durante los procedimientos tomando como punto de referencia las concentraciones mínimas bactericidas con el objetivo de conseguir una mayor efectividad de la limpieza y desinfección de las superficies.

Finalmente, futuros estudios deberán evaluar microbiológicamente los programas de limpieza y desinfección a nivel de producción primaria, empleando métodos modernos alternados con las técnicas de microbiología convencional, para aumentar la sensibilidad y especificidad analítica y principalmente disminuir el tiempo de espera para conocer los resultados e implementar acciones correctivas en la línea de producción y garantizar la inocuidad del producto final.

Bibliografía

- Barros, Y. A., García, L. M., Franco- Anaya, P. A., Arellano, D., Sossa, A. E., Guzmán, H., & Herrera, C. A. (2014). Parasitismo intestinal en manipuladores de alimentos en Cartagena de indias durante el periodo 2005–2011. *CIENCIACTUAL*, 3, 46-51.
- Both, J. M. C., Longaray, S. M., & Avancini, C. A. M. (2009). O desinfetante hipoclorito de sódio como barreira sanitária: condições de atividade frente a *Staphylococcus aureus* isolados em alimentos envolvidos em surtos de toxinfecções alimentares. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 68(2), 254-258.
- Bottale, A. J., Riera, L. M., & Rabinovitch, L. (2015). Evaluación de la carga microbiológica ambiental en áreas destinadas a producción y control de vacunas. *Revista Cubana de Farmacia*, 49(1), 47-60.
- Burguet Lago, N., Brito Godoy, L. C., & Cánovas Borges, I. (2013). Evaluación de la efectividad de un desinfectante mediante el método de placas de contacto. *Revista Cubana de Farmacia*, 47(2), 185-192.
- Cartón, F. L., Iranzo, E. J. O., Navarro, R. B., & Tormo, C. L. (2011). Control de la presencia de biofilms en las industrias alimentarias. *Alimentación, equipos y tecnología*(264), 43-47.
- Flórez, A. C., Rincón, C., Garzón, P., Vargas, N., & Enriquez, C. (2008). Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia, 2007. *Infectio*, 12, 255-266.
- Franco-Anaya, P. A. (2008). *Instructivo control microbiológico de desinfectante I-PM-04. 2008/08/22/V1*. Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos. Universidad de San Buenaventura Caratgena-Colombia.
- Franco-Anaya, P. A., Duran Sierra, J., Mendoza Herrera, A., & Orozco-Ugarriza, M. E. (2016). Evaluation of good hygiene practices and microbiology profile in food handlers of meat products Cartagena-Colombia. *Revista Vitae*. 2016 Supplement, Vol. 23 (2), pS174-S175. 2p. ISSN:0121-4004.
- Laínez, M., Hernandis, A., & Marín, C. (2008). Limpieza y desinfección de granjas de puesta: la herramienta para luchar contra *Salmonella spp*. *Selecciones Avícolas: Jornadas Prof. de Avicultura. Aranda de Duero., Noviembre*, 7-16.
- López Gutiérrez, L., Bettin, A., Suárez, H., & Orozco-Ugarriza, M. E. (2016). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from meat products in commercial retailers from Cartagena-Bolívar. *Revista Vitae*. 2016 Supplement, Vol. 23 (2), pS22-S23. 2p.
- Maldonado, L., & Delgado, E. (2012). Evaluación de dos desinfectantes químicos sobre *E. coli* presente en canales de pollo. @ *limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 10(1), 80-86.

- Mejia Agüero, L. E. (2015). Siguiendo las “Cinco claves para la Inocuidad de los Alimentos” de la Organización Mundial de Salud (OMS), y educando en cuanto a las enfermedades transmitidas por alimentos, tomamos acción para prevenir y detectar la aparición de enfermedades infecciosas de origen alimentario.
- Ministerio de Salud de Colombia. (1997). *Decreto 3075 de 1997*. Bogotá.
- Navia, D. P., Villada, H., & Mosquera, S. (2010). Las biopelículas en la industria de alimentos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 8(2), 118-128.
- Ricaurte, S. L. (2005). Bioseguridad en granjas avícolas. *Redvet: Revista Electrónica de Veterinaria*, 6(2), 1-17.
- Salas Vázquez, D. I., & Rodríguez Jerez, J. J. (2009). *Evaluación de metodologías de control higiénico de superficies alimentarias y adaptación de la PCR en tiempo real como método de control de patógenos. (doctoral Thesis)*, Universitat Autònoma de Barcelona.
- Soto Varela, Z. E., Pérez Lavalle, L., & Estrada Alvarado, D. M. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia 2010-2013. *Revista Científica Salud Uninorte*, 32(1).
- Taboada, A., Sanchez, E., Cava, R., Marin, F., & Lopez, A. (2007). Efectividad de desinfectantes de superficies de los equipos en instalaciones de envasado de productos listos para su consumo. *Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad de Murcia. Departamento de Ingeniería de Alimentos. Universidad Politécnica de Cartagena*.
- Torrens, H. R., Argilagos, G. B., Cabrera, M. S., Valdés, J. B., Sáez, S. M., & Viera, G. G. (2015). Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *REDVET: Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(8), 1-27.
- Torres, A., De Peralta, O., Valdés, T., Carreño, M., Dihigo, R. A., & Escoto, F. P. (2002). Guía para la confección de programas de limpieza y desinfección en establecimientos de alimentos. *Rev Cub Aliment Nutr*, 16(1), 77-80.