

Establecimiento de Intervalos de Tolerancia para el Control de Coliformes Totales en el Área de Desposte Bovino

Establishment of Tolerance Intervals in Order to Control Total Coliforms in the Beef Deboning Area¹

Eduardo Javid Corpas Iguarán

Bacteriólogo

Especialista en Microbiología Industrial

Grupo de Investigación y Desarrollo Tecnológico para el Sector Agroindustrial y Agroalimentario

INDE TSA

Docente Universidad Católica de Manizales

eduardocorpas@hotmail.com; ecorpas@ucm.edu.co

Recibido Enero 10 de 2012 – Aceptado Mayo 30 de 2012

RESUMEN

Para garantizar la inocuidad de los productos, las empresas alimentarias deben elaborar estrategias de control sobre la contaminación cruzada, que favorecen la durabilidad del alimento y el sostenimiento de la salud pública.

Se implementaron intervalos de tolerancia a partir del análisis de ambientes, superficies, y manipuladores, para el recuento de coliformes totales en el área de desposte, considerados de implicación directa hacia la calidad microbiológica del producto, hasta completar diez repeticiones para cada uno. Los datos obtenidos fueron sometidos a procesamiento estadístico para eliminación de datos atípicos, y los datos eliminados fueron reemplazados por otros provenientes de muestreos subsecuentes que estuviesen dentro de la normalidad.

¹Producto derivado del proyecto de investigación y desarrollo "Establecimiento de un sistema de verificación para el control de coliformes totales en un frigorífico", financiado por la Universidad Católica de Manizales.

Finalmente, a partir de los datos obtenidos, se instauraron intervalos de tolerancia para la adopción de medidas específicas a cada tipo de análisis, cuando los límites microbiológicos sean sobrepasados, como medida transversal complementaria para evitar la contaminación cruzada y contribuir a la inocuidad del producto.

Palabras clave: Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control (ARPCCC), contaminación cruzada, Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), intervalos de tolerancia, medicina veterinaria, microbiología.

ABSTRACT

To guarantee product safety, food companies must develop strategies of control of cross contamination, which promote the durability of the food and sustaining of public health.

Tolerance intervals were implemented through the analysis of environments, surfaces and food handlers, for total coliform count in the deboning area, which were considered of direct implication to the microbiological quality of the product, until completing ten repetitions for each one. The information obtained was submitted to statistical processing in order to eliminate atypical data, and deleted data were replaced by others, originating of subsequent samplings, that were within of the normality.

Finally, from data obtained, tolerance intervals were established for the adoption of specific actions in each type of analysis, when microbiological limits are exceeded, as a complementary transversal action to avoid cross contamination and contribute to product safety.

Key words: Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP), cross contamination, foodborne illness (FBI), tolerance intervals, veterinary medicine, microbiology.

1. INTRODUCCIÓN

En el primer trimestre del año 2008 se reportaron 759 casos de enfermedades transmitidas por alimentos asociados a intoxicación alimentaria presentando mayor incidencia en los departamentos de Antioquia, Cundinamarca, Magdalena y la ciudad de Bogotá (Corrales et al., 2008), eventos durante los cuales, los productos cárnicos fungen como vectores relevantes (Ojeda & Vásquez, 2009), ya que por su

composición química y por su elevada actividad de agua (Gil, 2009), son considerados como alimentos de alto riesgo para salud pública (Fernández & Quiñónez, 2003), además de tener alto consumo 18 kg/año (FEDEGAN – CORPOICA, 2008). Una de las causas principales de las ETA proviene de las deficiencias en el control de la contaminación cruzada durante los procesos de transformación de alimentos, y en el caso particular de la carne, el desposte es una fase determinante para evitar la contaminación cruzada, debido a la manipulación requerida y el contacto del producto con diversas superficies, condición que amerita el monitoreo, control y aplicación de medidas cuando se evidencien los fenómenos de contaminación.

La legislación actual Colombiana en materia de producción cárnica está representada por la resolución 2905 de 2007, que establece los requisitos sanitarios y de inocuidad en la producción cárnica de las especies bovina y bufalina destinadas para el consumo (Ministerio de la Protección Social, 2007¹), y el decreto 1500 de 2007, relacionado con la inspección, vigilancia y control del proceso productivo en cuestión, así como los requisitos sanitarios exigidos a través de la cadena productiva bovina (Ministerio de la Protección Social. (2007²).

Teniendo en cuenta que estas legislaciones, sólo contemplan el monitoreo de microorganismos como *E. coli* y *Salmonella spp* en el producto, las actividades de control microbiológico, salvo en frigoríficos involucrados en sistemas de calidad y/o inocuidad, son encaminadas de manera infructuosa a la destrucción del microorganismo en las canales, mientras los ambientes, equipos, utensilios y manipuladores suelen convertirse en focos ocultos de contaminación.

La empresa objeto de estudio ha sido certificada con el sistema de calidad ISO 9000:2005, sin embargo, ha tenido la necesidad de establecer altos estándares de inocuidad microbiológica, dado que los fenómenos de contaminación cruzada a partir de ambientes, superficies y manipuladores, pueden, específicamente en el área de desposte, afectar la inocuidad de una canal previamente higienizada, por lo cual se propuso el establecimiento de intervalos de tolerancia para las fuentes de contaminación mencionadas, con el fin de formular medidas, cuando se sobrepasen los límites de alerta. De esta manera, la empresa tendrá una herramienta de control microbiológico, determinante en el accionar de sistemas de calidad como el ARPPC, contribuyendo a la generación de un producto inocuo, de vida útil más

prolongada, cumpliendo los requerimientos microbiológicos establecidos en la normatividad vigente.

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de estudio

Proceso experimental que contempla el establecimiento de intervalos de tolerancia para el control del recuento de coliformes en los ambientes, superficies y manipuladores en desposte. Los Intervalos de tolerancia corresponden a un estadístico muestral que permite establecer los límites que en sentido probabilístico cubren los valores individuales de la población mediante un intervalo sobre una proporción fija de las mediciones, aplicando la fórmula $X \pm ks$, donde:

X = Media muestral.

k = Constante que tiene en cuenta el número de muestra y el nivel de confiabilidad.

s = Desviación estándar corregida (Walpole & Myers, 1998).

La utilización de intervalos de tolerancia se propugna bajo la posibilidad de tener en cuenta el tamaño de la muestra, la confiabilidad y la variabilidad de los datos, lo que implica una ventaja frente a los límites establecidos a partir de la desviación estándar, en cuyo proceso únicamente se considera la variabilidad de los datos (Corpas, 2009). Igualmente, se recomienda un total de 10 mediciones para cada parámetro a controlar, en razón a la factibilidad económica, dado que para muchas empresas el costo de los análisis microbiológicos para el establecimiento de intervalos puede considerarse significativo.

Las áreas críticas que se sometieron al establecimiento de intervalos de tolerancia teniendo como variable de respuesta el recuento de coliformes totales fueron: ambiente de desposte - área 1, ambiente de desposte - área 2, ambiente del área de empaque, superficie de cuchillo, superficie de chaira, superficie de peto metálico, superficie de mesa de teflón, superficie de banda transportadora, superficie de mesa circular, superficie de soporte para bolsa de empaque, superficie de sierra – costilla, manipulador desinfectado con amonio cuaternario de cuarta generación y manipulador desinfectado con triclosán.

2.2. Eliminación de datos atípicos basado en el cálculo de la mediana

La aplicación de intervalos de tolerancia implicó además, la aplicación de procedimientos estadísticos para la eliminación de datos atípicos, cuya inclusión podría derivar en la desviación de los valores de tendencia central y dispersión, como las medias y desviaciones estándar (Walpole & Myers, 1998). Una regla para la detección de valores atípicos está dada por señalar como datos atípicos aquellos que cumplan la siguiente condición,

$$\frac{x_i - \text{med}(x_j)}{\text{MEDA}(x_j)} > 4.5$$

donde $\text{med}(x)$ es la mediana de las observaciones, y $\text{MEDA}(x)$ es la mediana de las desviaciones absolutas con respecto a la mediana (Daza et al., 2009).

2.3. Condiciones establecidas durante el muestreo para el establecimiento de intervalos de tolerancia

Se realizaron diez repeticiones (se tomaron dos unidades de muestra durante cinco días diferentes, con el objeto de obtener resultados representativos del proceso) para el recuento de coliformes en cada uno de los análisis de ambientes, superficies y manipuladores del área de desposte, considerados de implicancia directa hacia la calidad microbiológica del producto en la empresa. La toma de muestras en 3 ambientes, 8 superficies y 2 manipuladores implicó un total de 130 muestras, sin tener en cuenta los reemplazos efectuados por datos atípicos. A los diez datos tomados se les realizó el proceso de eliminación de datos atípicos basado en el cálculo de la mediana (previamente descrito), y los datos determinados como atípicos fueron posteriormente reemplazados con otros provenientes de subsecuentes procesos de muestreo y análisis, hasta lograr un número de diez datos normales.

2.4. Método de análisis

Se utilizó el método de recuento en placa profunda para el recuento de coliformes totales en ambientes, superficies y manipuladores (ACODL, 1996).

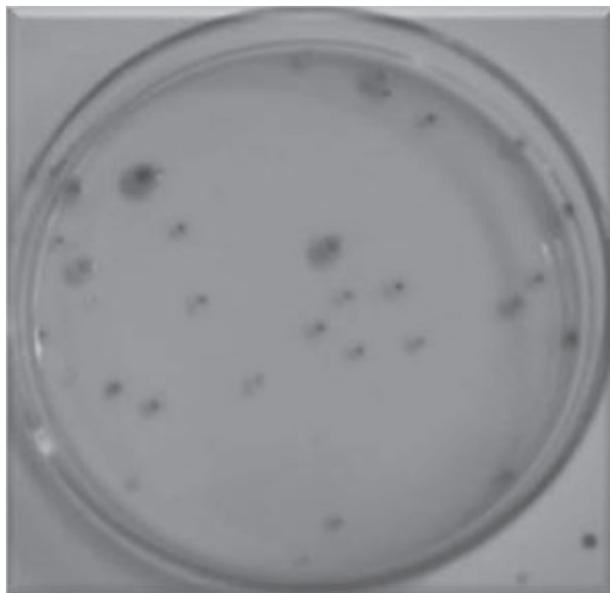


Figura 1. Características macroscópicas de las colonias de coliformes totales en agar cromocult

Las muestras fueron tomadas con escobillones estériles en Caldo letheen, que contiene peptona de caseína por lo cual ofrece condiciones de regeneración para microorganismos dañados, y soja-lecitina como inactivador de desinfectantes para evitar la inhibición del aislamiento microbiano durante el proceso analítico (Merck, 1990). Posteriormente las muestras fueron llevadas al laboratorio y sembradas en agar chromocult, que contiene peptonas, piruvato, sorbitol y búfer fosfato para garantizar el rápido crecimiento de las colonias de coliformes, las cuales se visualizan como colonias de color salmón a rojo debido al sustrato cromogénico del medio, tal como se puede observar en el gráfico 1.

3. RESULTADOS

3.1. Proceso de eliminación de datos atípicos y establecimiento de intervalos

La tabla 1 pretende ejemplarizar el proceso de eliminación de datos atípicos a partir del cálculo de la mediana, aplicado a los datos de cada ambiente, superficie y manipulador evaluado. En la tabla se aprecia la superficie del utensilio “chaira” con una frecuencia mayor de datos atípicos, por lo cual,

dicha superficie debe ser monitoreada de manera frecuente por la empresa objeto de estudio, para así detectar los fenómenos de contaminación que se presenten.

Tabla 1. Eliminación de datos atípicos para el recuento de coliformes totales en superficies

| Superficie de cuchillo | | | | | Superficie de Chaira | | | | | Superficie de peto metálico | | | | |
|------------------------|-------|----------------------------------|------------------|--------------|----------------------|-------|----------------------------------|------------------|--------------|-----------------------------|-------|----------------------------------|------------------|--------------|
| Mediana de datos | Datos | Absoluto del dato (-) la mediana | Est. Peña Prieto | Gran Mediana | Mediana de datos | Datos | Absoluto del dato (-) la mediana | Est. Peña Prieto | Gran Mediana | Mediana de datos | Datos | Absoluto del dato (-) la mediana | Est. Peña Prieto | Gran Mediana |
| 4 | 5 | 1 | 0,3 | 3 | 10,5 | 10 | 0,5 | 0,1 | 5 | 4 | 4 | 0 | 0,0 | 2 |
| | 0 | 4 | 1,3 | | | 8 | 2,5 | 0,5 | | | 2 | 2 | 1,0 | |
| | 4 | 0 | 0,0 | | | 10 | 0,5 | 0,1 | | | 197* | 193 | 96,5 | |
| | 57* | 53 | 17,7 | | | 114* | 103,5 | 20,7 | | | 6 | 2 | 1,0 | |
| | 2 | 2 | 0,7 | | | 319* | 308,5 | 61,7 | | | 2 | 2 | 1,0 | |
| | 1 | 3 | 1,0 | | | 341* | 330,5 | 66,1 | | | 105* | 101 | 50,5 | |
| | 31* | 27 | 9,0 | | | 6 | 4,5 | 0,9 | | | 4 | 0 | 0,0 | |
| | 7 | 3 | 1,0 | | | 16 | 5,5 | 1,1 | | | 5 | 1 | 0,5 | |
| | 5 | 1 | 0,3 | | | 11 | 0,5 | 0,1 | | | 1 | 3 | 1,5 | |
| | 1 | 3 | 1,0 | | | 5 | 5,5 | 1,1 | | | 62* | 58 | 29,0 | |
| 4 | 0 | 0,0 | 6 | 4,5 | 0,9 | 1 | 3 | 1,5 | | | | | | |
| 0 | 4 | 1,3 | 34* | 23,5 | 4,7 | 3 | 1 | 0,5 | | | | | | |
| * Datos atípicos | | | | | * Datos atípicos | | | | | * Datos atípicos | | | | |

La generación de datos atípicos durante los análisis efectuados para el establecimiento de intervalos de tolerancia puede considerarse también como un indicador indirecto sobre la frecuencia de desvíos en los recuentos de una población específica, tal como se observa en la tabla 1, donde se presentaron cuatro datos atípicos, antes de completar los diez normales, con relación al cálculo de la mediana para dicha serie de datos. En contraste, la superficie de cuchillo evidenció dos datos atípicos antes de completar los datos normales, de manera que las superficies con mayor frecuencia de datos atípicos tienen también mayor probabilidad de generación de desvíos durante los análisis de control, posteriores al establecimiento de los respectivos intervalos, lo cual deriva en la necesidad de ejercer dichos controles con mayor periodicidad temporal.

3.1.1. Intervalos en ambientes

Los recuentos obtenidos al analizar los ambientes fueron significativamente homogéneos, con coeficientes de variación cercanos a cero, y al instaurar los intervalos de tolerancia, los límites de alerta no superaron el recuento de 3 UFC, siendo similares los límites de recuento de los tres ambientes evaluados (tabla 2). Es importante destacar que al someter los recuentos provenientes de los análisis de ambientes al proceso de eliminación de datos atípicos no se detectaron datos anormales, lo cual indica que el ambiente tuvo un nivel de control apropiado, de manera que la empresa puede manejar un nivel de periodicidad limitado en cuanto a los muestreos

de control para verificar el comportamiento del recuento de coliformes en estos ambientes.

Tabla 2. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis de ambientes

| Límites | Área del proceso evaluada | | |
|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| | Desposte Área 1 | Desposte Área 2 | Empaque |
| | Recuento de Coliformes totales | Recuento de Coliformes totales | Recuento de Coliformes totales |
| Límite de Alerta Superior | 2 | 3 | 3 |

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos durante el establecimiento de los intervalos de tolerancia en ambientes (tabla 2), el sobrepaso de 2 UFC de coliformes totales en los controles rutinarios del área 1 en la zona de desposte, implicará la toma de medidas correctivas para que el ambiente en cuestión no se convierta en un foco susceptible de generar fenómenos de contaminación cruzada hacia el producto. En caso de que no existan sobrepasos de los intervalos de tolerancia establecidos, se considerará que el ambiente del área respectiva se encuentra en condiciones de normalidad con respecto a la población de coliformes y no representa riesgo como vehículo de contaminación hacia el producto. Esta misma consideración es aplicable a los intervalos establecidos en superficies y manipuladores.

3.1.2. Intervalos en superficies

El análisis de las superficies mostró en general resultados heterogéneos, comparado con los análisis de ambientes. Al someter los recuentos obtenidos a la detección de datos atípicos se encontró que la sierra – costilla y la chaira fueron las superficies donde se presentaron datos atípicos con mayor frecuencia, con 33,3 y 28,5% de recuentos anormales respectivamente (tabla 1), de manera que estas superficies deben ser monitoreadas con periodicidad constante.

Tabla 3. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis de superficies

| Análisis de Superficies | | | | |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Límites | Área del proceso evaluada | | | |
| | Cuchillo | Chaira | Peto metálico | Mesa de teflón |
| | Recuento de Coliformes totales |
| Límite de Alerta Superior. | 11 | 21 | 9 | 13 |
| Límites | Banda transportadora | Mesa circular | Soporte para bolsa de empaque | Sierra - Costilla |
| | Recuento de Coliformes totales |
| Límite de Alerta Superior. | 121 | 8 | 8 | 14 |

Por otra parte, todos los límites obtenidos a partir del análisis de coliformes en superficies estuvieron entre 8 y 21 UFC/100 cm², excepto para la banda transportadora, cuyo límite de alerta correspondió a 121 UFC (tabla 3), además, el coeficiente de variación de esta superficie correspondió a 10.6%, en contraste con los coeficientes obtenidos para las demás superficies, los cuales fluctuaron entre 0 y 0,3. Estos hallazgos pueden indicar la necesidad de realizar cambios en la técnica de desinfección de la banda transportadora, puesto que es una superficie con ranuras y áreas de difícil acceso, de manera que periódicamente se podría dar un tratamiento especial, como la inmersión en desinfectante, teniendo en cuenta que es una superficie de contacto directo con el producto.

3.1.3. Intervalos en manipuladores

En cuanto al análisis de manipuladores, tanto para los desinfectados con el amonio cuaternario de cuarta generación, como para los desinfectados con triclosán se presentó un 23% de datos atípicos para el recuento de coliformes totales en las muestras tomadas, lo que implica la necesidad de sensibilización a los operarios, sobre la importancia de la técnica de desinfección para evitar que sus manos se conviertan en una fuente de contaminación cruzada. Las varianzas en los manipuladores indicaron homogeneidad en la distribución de los datos tomados, y los límites de alerta para el recuento de coliformes totales fueron similares (tabla 4).

Tabla 4. Intervalos de tolerancia establecidos a partir de los análisis de manipuladores

| Límites | Desinfectante evaluado en desposte | |
|---------------------------|------------------------------------|--------------------------------|
| | Amonio Cuaternario | Triclosán |
| | Recuento de Coliformes totales | Recuento de Coliformes totales |
| Límite de Alerta Superior | 7 | 6 |

4. CONCLUSIONES

Los recuentos de coliformes totales en los ambientes del área de desposte de la empresa no mostraron desvíos y fueron significativamente homogéneos, por lo cual, los controles para la verificación de la correcta desinfección ambiental pueden efectuarse con baja periodicidad.

Las medidas de dispersión obtenidas para la banda transportadora indican que la técnica de desinfección utilizada en esta superficie es inadecuada, y esta condición la hace susceptible de constituir un foco contaminante para el proceso. Así mismo, en las superficies sierra – costilla y chaira se presentaron los mayores frecuencias de aparición de datos atípicos para el recuentos de coliformes totales, por lo cual, la periodicidad de control debe ser constante.

Al establecer los intervalos de tolerancia en los ambientes, superficies y manipuladores del área de desposte de la empresa, se generó una herramienta para el control microbiológico de los coliformes totales como población indicadora de la presencia de patógenos, y consecuentemente, para el cierre de no conformidades ligadas a la esencia existencial del sistema ARPPC, como método preventivo, puesto que dichos controles no son ejercidos sobre el microorganismo en el producto, sino sobre las fuentes de contaminación cruzada.

5. RECOMENDACIONES

Teniendo en cuenta el porcentaje de desviaciones presentadas en algunas superficies y en los manipuladores, es importante desarrollar procesos de sensibilización enfocados a realizar correctamente los procesos de limpieza y desinfección, y sobre el conocimiento de las consecuencias de la contaminación para el proceso y los consumidores del producto.

Se recomienda replantear la técnica de desinfección de la banda transportadora, por cuanto es una superficie de contacto directo con el producto. Además es pertinente que se aumente la periodicidad de desmantelado para lavado y desinfección, de manera que no se convierta en un foco contaminante directo del proceso.

Dado que los intervalos de tolerancia constituyen un límite establecido sobre una proporción fija de datos, bajo condiciones específicas, es importante que la empresa renueve los límites determinados en ambientes, superficies y manipuladores, posterior a la variación de condiciones como el cambio del procedimiento de desinfección, variaciones en el proceso de desposte, modificaciones estructurales, entre otras, que pudiesen desembocar en una condición normal de tales procedimientos o condiciones de trabajo en la zona de desposte.

BIBLIOGRAFÍA

- Asociación Colombiana de Ingenierías Sanitaria y Ambiental ACODL. (1993). **Control de Calidad del Agua para Consumo**. Ed. ACODL.
- Corpas, E. (2009). **Procedimiento para el Establecimiento de Intervalos de Tolerancia a partir del Análisis Microbiológico de Ambientes, Superficies y Manos de Operarios en Empresas del Sector Agroalimentario**. Revista de Investigaciones - Universidad Católica de Manizales, Vol XIII, núm. 1, pp. 157-163.
- Walpole, R.; Myers, R. & Myers, S. (1998). **Probabilidad y estadística para ingenieros**. (6 ed.). México: Prentice-Hall Hispanoamericana.

WEBGRAFÍA

- Corrales, L.; Angel, V.; Caicedo, D. **Identificación de Salmonella y Escherichia coli en Manos y Guantes de Manipuladores en Planta de Sacrificio y Faenado de un Municipio de Cundinamarca**. Revista NOVA - Publicación Científica en ciencias biomédica. Vol. VI, núm. 9, pp. 101-112. Recuperado el 19 de marzo de 2010, de: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA9_ART2_SNELLA.pdf
- Daza, G.; Suárez, J. & Castellanos G. **Preproceso de Datos en Bioseñales: Una Aplicación en Detección de Patologías de**

- Voz.** Revista ingeniería e investigación, Vol. XXIX, núm. 3, pp. 92-96. Manizales. Recuperado el 25 de febrero de 2010, de: http://www.revistaingenieria.unal.edu.co/Resumenes/29_3/15_861.pdf. (2009).
- FEDEGAN – CORPOICA. **Estudio Prospectiva de la Cadena Cárnica Bovina.** Federación Colombiana de Ganaderos – Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. Recuperado el 25 de marzo de 2010, de: www.cadenacarnicabovina.org.co/.../Análisis_desempe_o_mayo_21_2008.doc (2008).
 - Fernández, J., Quiñónez, J. **Diseño del Sistema HACCP para el Proceso de Producción de Carne Bovina para Consumo.** Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, Vol. XVI, núm. 1. Recuperado el 25 de marzo de 2010, de: <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/viewFile/109/108> (2003).
 - GIL, D. **Parámetros Para Determinar la Calidad de los Productos Cárnicos a través de los Diferentes Procesos en la Empresa “Comestibles Dan”.** Corporación Universitaria Lasallista. Facultad de Ciencias Administrativas y Agropecuarias. Recuperado el 25 de marzo de 2010, de: <http://www.lasallistavirtual.edu.co:81/dspace/handle/123456789/38> (2009).
 - Merck. **Manual de medios de cultivo: Indicaciones generales para el empleo de medios de cultivo deshidratados.** Recuperado el 20 de mayo de 2010, de: <http://www.merck-chemicals.com.co/> (2006).
 - Ministerio de la Protección Social. . Resolución número 2905 de 2007. Recuperado el 24 de marzo de 2010, de: http://web.invima.gov.co/Invima///normatividad/docs_alimentos/Resolucion2905de2007Bovinos.pdf (20071)
 - Ministerio de la Protección Social. Decreto número 1500 del 4 de mayo de 2007. Recuperado el 24 de marzo de 2010, de: http://web.invima.gov.co/Invima///normatividad/docs_alimentos/Decreto1500_2007.pdf (20072).
 - Ojeda, C. & Vásquez, G. **Aplicación de Ácidos Orgánicos en la Reducción de Microorganismos Aerobios Mesófilos y Coliformes Totales y Fecales en Canales de Bovinos.** Revista Tecnológica ESPOL. Recuperado el 26 de marzo de 2010, de: <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/210/1/350.pdf> (2009).