



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Bioquímica y Farmacia

“Evaluación de la eficacia del desinfectante líquido alcalino clorado (ACL 40) frente a coliformes totales y *E. coli* en las superficies en contacto con alimentos en el área de producción de la empresa New Lac”

**Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Bioquímico Farmacéutico**

Autores:

Juan Diego Gavilanes Rodas

CI: 010487840-0

Sergio Esteban Vásquez Peralta

CI: 010595490-3

Directora:

Dra. Claudia Janneth Carchipulla Sanango.

CI: 030149778-0

Cuenca-Ecuador

06 de noviembre del 2019



RESUMEN

Se evaluó la eficacia del desinfectante líquido alcalino clorado ACL 40 en concentración del 5% durante 30 minutos de tiempo de exposición, frente a coliformes totales y *E. coli* en las superficies inertes regulares e irregulares en contacto con el alimento en el área de producción de la empresa New Lac. Este estudio se basó en una investigación descriptiva, observacional, de diseño transversal. Se muestrearon un total de 240 muestras para su posterior análisis en Placas Petrifilm® 3M: *E. coli*/coliformes.

En el análisis estadístico se utilizó la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney, debido a que los resultados fueron no paramétricos. Se aceptó la hipótesis alterna: “La población de coliformes totales y *E. coli* antes del PLD es mayor a la población de coliformes totales y *E. coli* después del PLD”. Sin embargo, para evidenciar la dispersión de los recuentos microbiológicos se realizaron histogramas y para demostrar la acción microbicida del desinfectante se utilizaron gráficos de cajas y bigotes (box plots), los cuales permitieron comparar las poblaciones bacterianas tanto de coliformes totales como de *E. coli* antes y después del PLD.

Finalmente, se observó la reducción significativa de la población de coliformes totales en la mayoría de las superficies inertes regulares e irregulares, cumpliendo con la norma. En el caso de *E. coli* se reportó ausencia en los recuentos microbiológicos, logrando la eliminación de la población y cumpliendo así con la normativa, la cual exige la ausencia del microorganismo en cuestión.

Palabras claves: Evaluación. Eficacia. Desinfectante. Coliformes totales. *E. coli*.



ABSTRACT

The efficacy of the chlorinated alkaline liquid disinfectant ACL 40 in 5% concentration for 30 minutes of exposure time, was evaluated against total coliforms and *E. coli* on regular and irregular inert surfaces in contact with food in the production area of the company New Lac. This study was based on a descriptive, observational, cross-sectional research. The sampling was carried out by means of the hyssop method. A total of 240 samples were sampled for later analysis by 3M® Petrifilm Plates: *E. coli* / Coliforms.

In the statistical analysis, the Wilcoxon-Mann-Whitney test was used, because the results were non-parametric. The alternative hypothesis was accepted: "The population of total coliforms and *E. coli* before the PLD is greater than the population of total coliforms and *E. coli* after the PLD." However, to show the dispersion of the microbiological counts, histograms were performed and to demonstrate the microbicidal action of the disinfectant, box plots were used, which allowed comparing the bacterial populations of both total coliforms and *E. coli* before and after the PLD.

Finally, the colony count of total coliforms where the significant reduction of the population of total coliforms was observed in most of the regular and irregular inert surfaces, complying with the rule. In the case of *E. coli*, absence was reported in the microbiological counts, achieving the elimination of the population and thus complying with the regulations, which requires the absence of the microorganism in question

Keywords: Evaluation. Effectiveness. Disinfectant. Total coliforms. *E coli*.



ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
ÍNDICE DE CONTENIDO	4
ÍNDICE DE GRÁFICOS	6
ÍNDICE DE FIGURAS	6
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE ANEXOS	7
GLOSARIO	8
AGRADECIMIENTOS	13
DEDICATORIA.....	14
INTRODUCCIÓN	15
Hipótesis.....	16
Objetivo General:.....	16
Objetivos Específicos:	16
1. CONTENIDO TEÓRICO	17
1.1 Buenas Prácticas de Manufactura	17
1.2 Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento	17
1.3 Programa de limpieza y desinfección en una planta de alimentos	17
1.3.1 Orden del Procedimiento de Limpieza y Desinfección	18
1.3.2 Tipos de desinfección	18
1.4 Desinfectante.....	19
1.4.1 Clasificación de los desinfectantes	20
1.4.2 Características de un desinfectante ideal.....	21
1.4.3 Factores que afectan la acción de los desinfectantes	22



1.5 Microorganismos indicadores de higiene y calidad	25
1.5.1 Coliformes totales	26
1.5.2 Coliformes fecales	27
2 METODOLOGÍA	28
2.1 Tipo y diseño de estudio	28
2.2 Área de estudio.....	28
2.3 Muestreo.....	29
2.3.1 Tamaño de la muestra	29
2.3.2 Toma de muestra.....	29
2.4 Manejo de datos	30
2.4.1 Criterios de inclusión.....	30
2.4.2 Criterios de exclusión.....	30
2.5 Materiales, equipos y reactivos	30
2.6 Métodos y Técnicas de Análisis	31
2.6.1 Método del Hisopo	31
2.6.2 Análisis microbiológico	32
2.7 Cálculo y expresión de resultados	35
2.7.1 Cálculo para superficies inertes regulares (SIR)	35
2.7.2 Cálculo para superficies inertes irregulares (SII).....	35
2.8 Análisis estadístico	35
3 RESULTADOS	36
3.1 Recuento de coliformes totales antes de la desinfección en superficies inertes regulares e irregulares	36
3.2 Recuento de <i>E. coli</i> antes de la desinfección en superficies inertes regulares e irregulares.....	39
3.3 Recuento de coliformes totales después de la desinfección en superficies inertes regulares e irregulares	41



3.4 Recuento de <i>E. coli</i> después de la desinfección en superficies inertes regulares e irregulares.....	43
3.5 Análisis estadístico mediante la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney	43
4 DISCUSIÓN.....	47
5 CONCLUSIONES.....	49
6 RECOMENDACIONES.....	50
7 BIBLIOGRAFIA.....	52
8. ANEXOS	57

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Pág.

Gráfico 1. Histograma para coliformes totales antes y después del PLD.....	44
Gráfico 2. Histograma para <i>E. coli</i> antes y después del PLD.....	45
Gráfico 3. Diagrama de cajas y bigotes (box plots) para coliformes totales antes y después del PLD.	46
Gráfico 4. Diagrama de cajas y bigotes (box plots) para <i>E. coli</i> antes y después del PLD.	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1. Tipos de desinfección.....	19
Figura 2. Características de un desinfectante ideal.	22
Figura 3. Criterios para evidenciar la presencia microorganismos indicadores de higiene y calidad.....	26
Figura 4. Cepas de <i>E. coli</i> enteropatógenas.....	28
Figura 5. Ubicación geográfica del área de estudio.	28
Figura 6. Método del hisopo.	31



Figura 7. Flujograma del procedimiento de siembra en las Placas Petrifilm® 3M: *E. coli*/coliformes 34

ÍNDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Materiales, equipos y reactivos	30
Tabla 2. Promedio de los recuentos de coliformes totales antes de la desinfección con ACL 40.....	38
Tabla 3. Promedio de los recuentos de <i>E. coli</i> antes de la desinfección con ACL 40.....	40
Tabla 4. Promedio de los recuentos de coliformes totales después de la desinfección con ACL 40	42
Tabla 5. Valores estadísticos obtenidos mediante la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney tanto para coliformes totales como para <i>E. coli</i>	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Pág.

Anexo 1. Ficha Técnica ACL 40	57
Anexo 2. Autorización de la Empresa de lácteos “New Lac”	59
Anexo 3. “Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas”.....	60
Anexo 4. Certificado de validación del desinfectante líquido alcalino clorado ACL 40. ...	70
Anexo 5. Codificación utilizada para la toma y análisis de las muestras	72
Anexo 6. Flujograma del procedimiento de toma y transporte de las muestras.	73
Anexo 7. Análisis estadístico para coliformes totales y <i>E. coli</i> mediante el software estadístico Stata 10.0, utilizando la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney.	74



GLOSARIO

Biocida: Agente químico, usualmente de amplio espectro que inactiva microorganismos.

Biofilm: Comunidad microbiana sésil, caracterizada por células que están adheridas irreversiblemente a un substrato o interfase, o unas con otras, encerradas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares que ellas han producido, y exhiben un fenotipo alterado en relación con la tasa de crecimiento y transcripción génica.

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura.

Germicida: Agente que destruye microorganismos en especial patógenos, en tejidos vivos y objetos inanimados. Según germen sobre el que actúa, se lo denominará fungicida, viricida, bactericida, etc.

IMViC: Indol/Rojo de metilo/Voges-Proskauer/Citrato.

MNPC: Muy numeroso para contar.

PLD: Protocolo de Limpieza y Desinfección.

SII: Superficie inerte irregular.

SIR: Superficie inerte regular.



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Juan Diego Gavilanes Rodas en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“Evaluación de la eficacia del desinfectante líquido alcalino clorado (ACL 40) frente a coliformes totales y E. coli en las superficies en contacto con alimentos en el área de producción de la empresa New Lac”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 6 de noviembre de 2019

Juan Diego Gavilanes Rodas

C.I: 0104878400



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio
Institucional

Sergio Esteban Vásquez Peralta en calidad de autor y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación **“Evaluación de la eficacia del desinfectante líquido alcalino clorado ACL 40 frente a coliformes totales y *E. coli* en las superficies en contacto con alimentos en el área de producción de la empresa New Lac”**, de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 06 de noviembre de 2019

Sergio Esteban Vásquez Peralta

C.I 010595490-3



Cláusula de Propiedad Intelectual

Juan Diego Gavilanes Rodas, autor del trabajo de titulación **“Evaluación de la eficacia del desinfectante líquido alcalino clorado (ACL 40) frente a coliformes totales y *E. coli* en las superficies en contacto con alimentos en el área de producción de la empresa New Lac”**, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 6 de noviembre de 2019

Juan Diego Gavilanes Rodas

C.I: 0104878400



Cláusula de Propiedad Intelectual

Sergio Esteban Vásquez Peralta, autor del trabajo de titulación “**Evaluación de la eficacia del desinfectante líquido alcalino clorado (ACL 40) frente a coliformes totales y *E. coli* en las superficies en contacto con alimentos en el área de producción de la empresa New Lac**”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor.

Cuenca, 06 de noviembre de 2019

Sergio Esteban Vásquez Peralta

C.I. 010595490-3



AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestro más sincero agradecimiento a la Dra. Claudia Carchipulla, directora del trabajo de titulación, hacemos reconocimiento al apoyo, dedicación y contribución otorgada en la realización del mismo. Las pautas, sugerencias y motivación que nos supo brindar, además de compartir con nosotros su conocimiento y experiencia.

Un trabajo de titulación siempre será fuente de conocimiento y aplicabilidad de las experiencias ganadas durante la vida universitaria, agradecemos infinitamente al Sr. Martín Gavilanes propietario de la planta de lácteos “New Lac” por permitirnos realizar nuestra tesis en su empresa y las facilidades brindadas.

Agradecimientos perennes a la Dra. Johana Ortiz, PhD, por el valioso tiempo dedicado hacia nosotros en el aporte y orientación de la parte estadística.

Nuestra infinita gratitud a la Dra. Mariana Saá, excelente docente y persona de gran calidad humana que nunca será olvidada, gracias por compartir experiencias, conocimiento, motivarnos e impulsarnos a seguir cumpliendo nuestras metas.

Agradecemos a nuestros docentes, amigos y compañeros de aula, siempre serán un apoyo vital que nos permita cumplir nuestras metas, son la fuerza, la energía, la motivación, la enseña para trabajar en equipo con la finalidad de obtener mejores resultados en nuestras labores y poner en práctica los valores morales aprendidos en la vida universitaria.



DEDICATORIA

A Dios, por permitirme la vida, los logros y las metas cumplidas que han sido fruto de su bondad. Por darme el valor de superar todos los obstáculos y adversidades durante mi vida universitaria y permitirme estar junto a mis seres queridos.

El esfuerzo y el sacrificio de mi padre Juan Gavilanes siempre fueron pilar fundamental para culminar esta meta, estoy eternamente agradecido y me faltará la vida para saber recompensarlo; a mi madre Maritza Rodas por guiar mis pasos por el buen camino.

A mi tía Edith Rodas por ser mi segunda madre, darme la fortaleza, la motivación y hacer que nunca me rinda por más difícil que sea el camino.

Diego

La presente tesis está dedicada a primeramente a Dios y a mis padres, Sergio Gustavo Vásquez Morquecho y Fanny Lorena Peralta Cárdenas, quienes han sabido brindarme todo su amor y comprensión, aconsejándome de la mejor forma para no rendirme nunca y para hacer de mí una persona mejor cada día; de igual forma a mis hermanos, Jaime y Renata, por la paciencia y cariño brindados durante toda su vida.

A mi abuela Cumanda Morquecho, por su infinita bondad, ayuda y comprensión.

A mi tía Cecilia Vásquez, quien, con su apoyo en todo sentido, ha sabido guiarme y aconsejarme de la mejor manera; de igual manera a Don Guille quien en vida fue una gran persona, que entre chistes y risas supo brindarme su apoyo y motivación.

A una persona una muy especial en mi vida, Alexandra, gracias por su amor infinito, paciencia y comprensión, quien supo guiarme, corregirme y motivarme siempre con cariño y de la mejor manera.

Sergio



INTRODUCCIÓN

En la producción de alimentos, la limpieza y desinfección de las instalaciones, equipos y utensilios es fundamental, por lo que los “Procedimientos de Limpieza y Desinfección” (PLD) tienen como objetivo garantizar la inocuidad de los alimentos llevados a cabo en un ambiente aséptico en todas las etapas del proceso de elaboración de los mismos (recepción de materia prima, transporte, producción y almacenado). En estos programas los métodos físicos y químicos de desinfección son de vital importancia para lograr la ausencia de microorganismos patógenos y cumplir con indicadores de higiene y calidad en el producto terminado (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO, 2011).

La desinfección de todas las zonas y superficies presentes en el área de producción de las industrias procesadoras de alimentos es un proceso crítico, por lo tanto, exige un control sistematizado y riguroso, abarcando todas aquellas superficies en contacto con el alimento, siendo estas, superficies vivas y superficies inertes regulares e irregulares (SIR y SII). Los tipos de desinfección utilizados son variados, sin embargo, la desinfección química mediante el uso de desinfectantes es muy aplicada a nivel global en las empresas alimenticias, las cuales eligen los mismos en base a diferentes criterios de utilización, ya sea para la aplicación sobre superficies en contacto o no con el alimento.

La industria ecuatoriana “New Lac” encargada de la elaboración de derivados lácteos utiliza el desinfectante líquido alcalino clorado ACL 40 (Anexo 1) para la desinfección de las superficies inertes del área de producción, debido a que posee una combinación sinérgica de sales alcalinas, tensioactivos y secuestrantes que le confieren una alta capacidad de detergente y desengrasante de todo tipo de suciedad. Además, incorpora cloro que le proporciona una elevada acción germicida (Pública, 2011; M^a Luisa Martínez Bagur, 2013).

Es por ello que este trabajo de titulación mediante la autorización de la empresa (Anexo 2) tiene como objetivo evaluar la eficacia del desinfectante ACL 40 utilizado a una concentración del 5% durante un tiempo de exposición de 30 minutos frente a coliformes totales y *E. coli* en las superficies inertes regulares e irregulares en contacto con el alimento en el área de producción de la empresa mencionada anteriormente, según la Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA (*Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con los alimentos y bebidas*) (Anexo 3). Debido al gran consumo de derivados lácteos como los quesos, la valoración de la eficacia de este desinfectante después de



haber conocido su validación (Anexo 4), es fundamental para garantizar la inocuidad de los mismos. Por ende, este estudio permitirá también la evaluación de alternativas o estrategias de uso del agente químico ACL 40 en los protocolos de limpieza y desinfección en las diferentes superficies que se encuentran en contacto con el alimento durante la etapa de elaboración de los quesos, colaborando directamente con la empresa en aspectos de higiene y calidad, y en el ahorro de recursos económicos.

Hipótesis

El desinfectante ACL 40 a una concentración del 5% y un tiempo de exposición de 30 minutos es eficaz en la eliminación de la población de coliformes totales y *E. coli* en las superficies inertes regulares e irregulares presentes en el área de producción.

Objetivo General:

Evaluar la eficacia del desinfectante ACL 40 frente coliformes totales y *E. coli* en las superficies inertes regulares e irregulares en contacto con el alimento en el Área de Producción de la Empresa “New Lac”.

Objetivos Específicos:

Evaluar la eficacia del desinfectante ACL 40 frente a coliformes totales en las superficies inertes regulares e irregulares en contacto con el alimento después del protocolo de limpieza y desinfección.

Evaluar la eficacia del desinfectante ACL 40 frente a *E. coli* en las superficies inertes regulares e irregulares en contacto con el alimento después del protocolo de limpieza y desinfección.



1. CONTENIDO TEÓRICO

1.1 Buenas Prácticas de Manufactura

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) engloban una serie de acciones y procesos relacionados con la higiene en todas las fases de obtención de los alimentos dentro de una industria. El propósito de la implementación de las buenas prácticas de manufactura es garantizar que todos aquellos productos procesados de consumo humano sean inocuos para los consumidores, mediante la elaboración de los mismos en un ambiente higiénicamente controlado de tal manera que elimine o disminuya riesgos que puedan afectar a la salud de la población y, por ende, la prevención de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS). Las BPM promueven la investigación, formación y capacitación del personal involucrado en los sistemas de gestión de calidad (Altamirano, Cují, 2018). Según la “Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura” la aplicación tanto de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Buenas Prácticas Higiénicas (BPH), y Sistemas de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), promueven el mejoramiento de las condiciones y principios involucrados en las intervenciones y fabricación de productos de consumo humano relacionándose con la salud e higiene. Además, establece los requerimientos básicos y lineamientos específicos relacionados con la manipulación de alimentos (Agricultura, 2019; Cervantes Javita, 2019).

1.2 Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento

Los Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES), junto con las BPM garantizan la inocuidad de los alimentos que se elaboren en una determinada micro o macroempresa alimentaria. Los POES son aquellos procedimientos que describen y explican cómo ejecutar un proceso o una tarea con un objetivo específico, entre dichas actividades la limpieza y desinfección. Sin embargo, es conveniente estandarizar y dejar constancia escrita de estos procedimientos para evitar errores que pudieran atentar contra la inocuidad del producto final (ACHIPIA Ministerio de Agricultura de Chile, 2017).

1.3 Programa de limpieza y desinfección en una planta de alimentos

Los programas de limpieza y desinfección conjuntamente con los demás Sistemas de Gestión de Calidad tienen como objetivo garantizar la calidad e inocuidad de los alimentos. Según la “Asociación Internacional para la Protección de los Alimentos”, la monitorización de la desinfección es uno de los componentes obligatorios de los controles preventivos de contaminación alimentaria en alimentos de consumo humano. Por lo que, la verificación del



cumplimiento de los mismos y una continua optimización es imprescindible (Etter, 2018; Helena, & Blair, 2016).

Según la “Sociedad Chilena de Infectología”, la limpieza y desinfección se definen como:

- **Limpieza:** eliminación por acción mecánica, con o sin uso de detergentes, de la materia orgánica y suciedad de superficies, objetos o ambiente. El agente básico para este proceso es el detergente.
- **Desinfección:** destrucción de microorganismos en objetos inanimados, que asegura la eliminación de las formas vegetativa pero no la eliminación de esporas bacterianas (Alexis Diomedi et al., 2017).

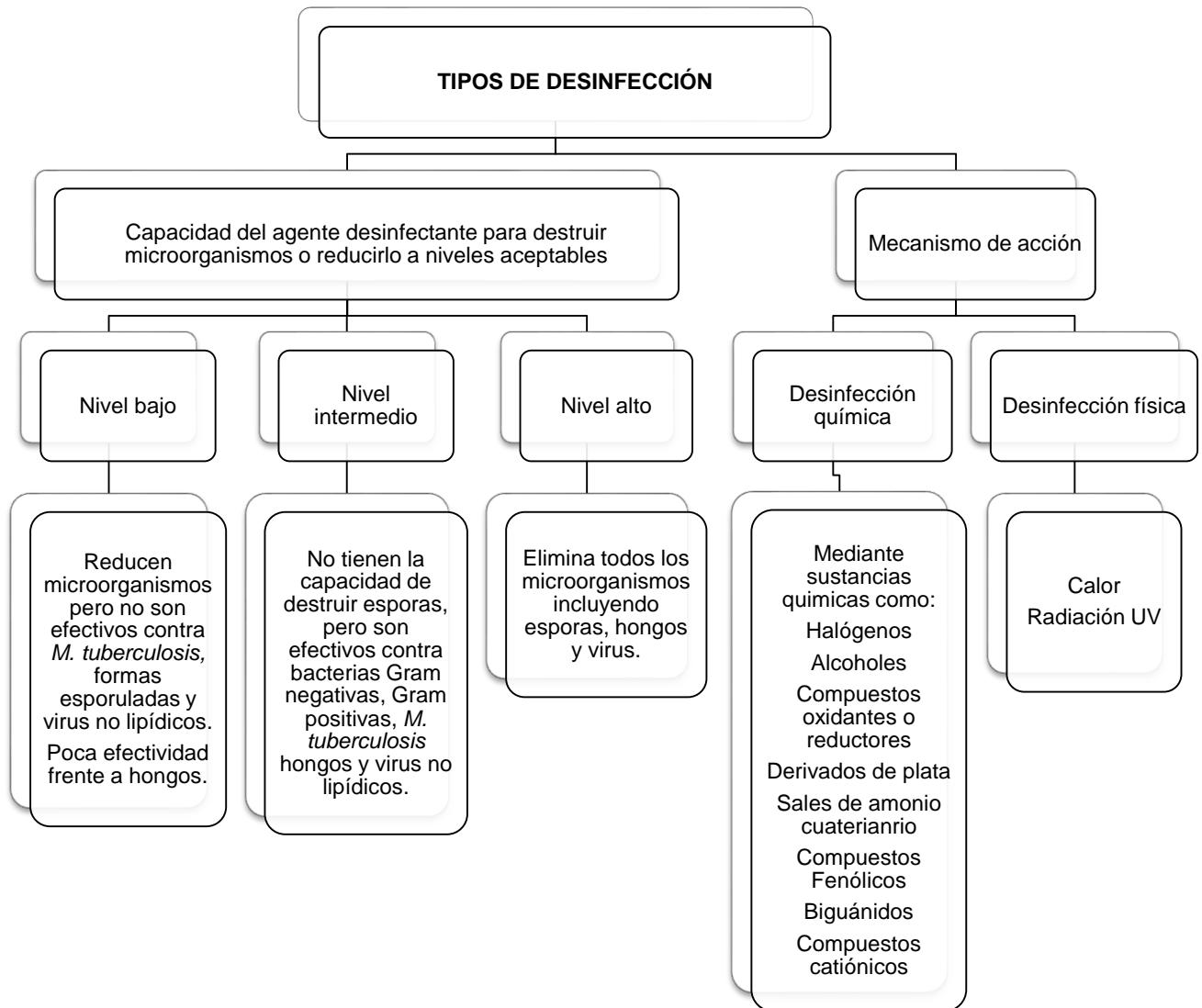
1.3.1 Orden del Procedimiento de Limpieza y Desinfección

- **Prelavado:** consiste en eliminar los residuos de alimentos visibles y se procede a remojar los equipos y los utensilios con agua caliente para provocar la remoción de la suciedad adherida.
- **Lavado:** se requiere de la intervención de un producto detergente para desprender y desechar la suciedad que no se ha podido eliminar con el prelavado.
- **Aclarado:** se usa agua potable en gran cantidad para desechar el detergente aplicado.
- **Aplicación del desinfectante:** los equipos, utensilios y superficies limpias y aclaradas se someten a la aplicación de un producto desinfectante para eliminar restos de microorganismos como bacterias que no se han eliminado con la limpieza.
- **Aclarado:** se debe tomar en cuenta la ficha técnica del desinfectante, ya que existen productos que no requieren de la eliminación de residuos de desinfectante porque no genera ningún daño al producto ni a la salud (Riesco Rodríguez, 2012).

1.3.2 Tipos de desinfección

La desinfección se puede clasificar en base a dos criterios, según la capacidad del agente desinfectante para destruir microorganismos o reducirlo a niveles aceptables y según su mecanismo de acción (figura 1).

Figura 1. Tipos de desinfección.



Fuente. (Baamonde, 2013; Tamayo, 2011; M^a Luisa Martínez Bagur, 2013)

1.4 Desinfectante

Un desinfectante es aquella sustancia capaz de eliminar microorganismos patógenos y no patógenos, pero no necesariamente sus formas de resistencia bacteriana (esporas). Por lo general, los desinfectantes se aplican sobre objetos inanimados o superficies. Los objetivos de estos compuestos químicos son reducir totalmente o a niveles aceptables la contaminación microbiana del medio ambiente, evitar el crecimiento y desarrollo



microbiano, y la eliminación total o parcial de microorganismos (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 2011; Baamonde, 2013; Tamayo, 2011).

1.4.1 Clasificación de los desinfectantes

Los desinfectantes se pueden clasificar en función de su mecanismo de acción:

1.4.1.1 Agentes que dañan la membrana:

Los solventes orgánicos y los desinfectantes tensioactivos o detergentes tienen como ejercicio comprometer la integridad estructural de la membrana afectando de tal modo la disposición ordenada de lípidos y proteínas interfiriendo de tal modo con procesos de transporte y metabolismo energético y la salida de pequeñas moléculas de la célula (Iáñez, 2004).

- a. **Detergentes:** estos compuestos contienen una porción hidrofóbica y una porción hidrófila, lo cual les permite formar micelas en solución acuosa, permitiéndoles formar micelas en solución acuosa y formar capas que recubren y solubilizan moléculas hidrófobas; dentro de este grupo se encuentran detergentes catiónicos, aniónicos.
- b. **Compuestos fenólicos:** su efecto bactericida es inmediato a bajas concentraciones generando daño en la membrana con pérdida de componentes citoplasmáticos, inactivación irreversible de oxidases y deshidrogenasas de membrana, además de la desnaturización de proteínas. Su solubilidad en agua es baja por ello se emplea agentes emulsificantes que incluso aumentan su efectividad. Se puede encontrar en este grupo al fenol, cresol, difenilos halogenados, alquilésteres.
- c. **Alcoholes:** desorganizan las bicapas lipídicas penetrando en la región hidrocarbonada de los lípidos, no son esterilizantes ya que no generan daño a las endosporas. Los más usados son el etanol e isopropanol.

1.4.1.2 Agentes que destruyen las proteínas

- a. **Ácidos y bases fuertes:** la presencia de sus grupos H⁺ y OH⁻ disociados respectivamente los hace activamente bactericidas, por lo general su actividad es proporcional al grado de disociación.
- b. **Ácidos orgánicos no disociables:** compuestos poco disociables, su efecto se lleva a cabo con moléculas intactas que penetran a la célula.



1.4.1.3 Agentes modificadores de grupos funcionales

Es una amplia clase de agentes cuyos efectos son alterar grupos que forman parte de los centros activos de enzimas y de otras proteínas, y alterar grupos funcionales de ácidos nucleicos, componentes de la pared y de membrana.

- a. **Metales pesados:** mercuriales, compuestos de plata y cobre; estos envenenan la actividad enzimática formando mercáptidos con los grupos -SH de la cisteína. También interaccionan con -NH₂, -COOH y radicales fosfato.
- b. **Agentes oxidantes:** tienen como efecto la inactivación de proteínas enzimáticas convirtiendo los radicales -SH en disulfuros -S-S-, los más potentes atacan los radicales amino, el grupo indol y la tirosina. En este grupo se encuentran los halógenos, agua oxigenada, ácido peracético.
- c. **Agentes alquilantes:** son agentes esterilizantes que actúan tanto sobre células vegetativas y también sobre esporas ejerciendo un efecto letal por su acción alquilante de proteínas y ácidos nucleicos. Se encuentran el formaldehído, óxido de etileno. (Iáñez, 2004; Jiménez Herráez, 2016)

1.4.2 Características de un desinfectante ideal

Las características o requisitos que debe cumplir un desinfectante ideal se mencionan en la figura 2.



Figura 2. Características de un desinfectante ideal.

CARACTERÍSTICAS DE UN DESINFECTANTE IDEAL	No debe ser tóxico o volátil.
	No debe ser corrosivo.
	No debe ser irritante para la piel y mucosas.
	Debe ser inerte con el material a desinfectar (sin oxidar o alterar el material).
	Debe poseer rápida acción desinfectante.
	Debe ser fácil de almacenar, preparar y aplicar.
	Debe ser inodoro e insípido.
	Debe ser soluble en agua.
	Debe ser compatible con otros productos que se usen antes o simultáneamente.
	Debe tener alto poder desinfectante.
	Debe poseer la capacidad de desincrustar y no atascar los canales de trabajo.
	Debe ser estable al almacenamiento.
	Debe ser resistente a factores ambientales (temperatura, luz, humedad).
	Debe tener la capacidad de formar capa protectora antiséptica o poseer un efecto residual.
	Debe tener amplio espectro de acción, que abarque bacterias Gram positivas y Gram negativas, bacterias ácido – alcohol – resistentes, virus y hongos.

Fuente. (Baamonde, 2013; Tamayo, 2011; M^a Luisa Martínez Bagur, 2013).

1.4.3 Factores que afectan la acción de los desinfectantes

La actividad microbicida de un desinfectante no reside solo en su composición. Existen diversos factores que pueden ocasionar alteraciones en la actividad del desinfectante para eliminar microorganismos, o impedir el contacto con la superficie a desinfectar. Dichos factores pueden potenciar o eliminar parcial y/o totalmente la actividad del mismo o pueden generar resistencia de los microorganismos hacia los agentes desinfectantes. Esta resistencia bacteriana está mediada por la adquisición de plásmidos y transposones, mutaciones genéticas o amplificación de genes cromosómicos endógenos. Por lo general, el factor más importante es la resistencia intrínseca o innata de los microorganismos, que en su mayoría se encuentra o reside forma directa en la membrana celular, que regula la entrada o salida de sustancias de nutrición o excreción, y por lo tanto, regula la



penetrabilidad de los agentes desinfectantes o esterilizantes (Tamayo, 2011; Sánchez-Saldaña & Anduaga-Sáenz, 2005; Cornelia Bischofberger, Mº José González, Rafael Herruzo, Felisa Jaen, Máxima Lizan García, Aurora Sacristán, Marta Piriz, 2014).

1.4.3.1 Temperatura

La temperatura es uno de los parámetros importantes relacionados con la acción de la desinfección ya que, el aumento de la temperatura es directamente proporcional al poder desinfectante, es decir, el aumento de la temperatura aumenta la velocidad microbicida. Sin embargo, de manera global un aumento de 10 °C supone una duplicación en la tasa de muerte de los microrganismos. El exceso de temperatura puede llegar a degradar o desestabilizar el producto y disminuir la acción germicida, como en el caso de desinfectantes a base de iodo o cloro que a temperaturas excesivas se pierde el principio activo, por lo tanto, deben ser usados a temperaturas menores de 42 °C. Esto depende de la naturaleza de cada desinfectante (Baamonde, 2013; Tamayo, 2011; Sánchez-Saldaña & Anduaga-Sáenz, 2005; Cornelia Bischofberger, Mº José Gonzalez, Rafael Herruzo, Felisa Jaen, Maxima Lizan Garcia, Aurora Sacristán, Marta Piriz, 2014).

1.4.3.2 pH (Potencial de Hidrógeno)

La intervención del pH dentro de la actividad microbicida se debe a la modificación del poder de la molécula desinfectante, superficie celular sobre la que actúa, carga superficial neta de la membrana del microorganismo y el poder de ionización del agente desinfectante. Por lo general, las formas ionizadas de los agentes disociables atraviesan con mayor facilidad las membranas biológicas, siendo más efectivos. En el caso de los agentes aniónicos son más eficaces a pH ácido que los agentes catiónicos, ya que estos muestran mayor eficiencia en un pH alcalino. Referente a algunos desinfectantes yodóforos, clorados, sales de amonio cuaternario, estos actúan mejor en medio alcalino y los fenoles en medio ácido, pero este último por su solubilidad debe ser utilizado a pH elevado (Tamayo, 2011; Sánchez-Saldaña & Anduaga-Sáenz, 2005; Cornelia Bischofberger, Mº José Gonzalez, Rafael Herruzo, Felisa Jaen, Maxima Lizan Garcia, Aurora Sacristán, Marta Piriz, 2014).

1.4.3.3 Concentración del desinfectante

El poder desinfectante de cada producto depende de la concentración indicada o recomendada por el fabricante, por lo que un cambio en la concentración de uso afecta la acción antimicrobiana del desinfectante y al tiempo de exposición que se encuentra en estrecha relación con la concentración. Por lo tanto, a mayor concentración menor tiempo para eliminar una determinada fracción de la población microbiana, a excepción de los



yodóforos (Tamayo, 2011; Sánchez-Saldaña & Anduaga-Sáenz, 2005; Cornelia Bischofberger, Mº José Gonzalez, Rafael Herruzo, Felisa Jaen, Maxima Lizan Garcia, Aurora Sacristán, Marta Piriz, 2014).

1.4.3.4 Tiempo de exposición o contacto

Los desinfectantes ejercen su efecto microbicida mediante reacciones químicas, por lo que la velocidad de reacción es directamente proporcional a la concentración microbiana presente en el área o superficie. La muerte de los microrganismos no es instantánea. Sin embargo, todos los desinfectantes describen en el etiquetado el tiempo específico para lograr el nivel de desinfección indicado, ya que un menor tiempo de exposición del desinfectante en el área a desinfectar supone una menor actividad microbicida. Un tiempo de exposición excesivo puede llegar a ocasionar erosión o corrosión del material o superficie. Para lograr una desinfección eficaz es indispensable reducir la carga microbiana inicial y el exceso de materia inorgánica, ya que dificultan la acción de los desinfectantes (Baamonde, 2013; Tamayo, 2011; Sánchez-Saldaña & Anduaga-Sáenz, 2005; Cornelia Bischofberger, Mº José Gonzalez, Rafael Herruzo, Felisa Jaen, Maxima Lizan Garcia, Aurora Sacristán, Marta Piriz, 2014).

1.4.3.5 Concentración microbiana

La concentración microbiana o la presencia de biofilms van de la mano con la eficacia del desinfectante ya que, al existir una alta concentración microbiana o biopelículas, aumenta la cantidad desinfectante a utilizar y el tiempo necesario para su actuación. Debido a esto, es fundamental realizar un previo proceso de limpieza de las áreas a desinfectar para reducir la biocarga, y aún más en equipos o utensilios articulados. Estos últimos necesitan ser desarmarlos para lograr una mejor eficacia del agente desinfectante. Los biofilms son una barrera de microorganismos que son hasta 1000 veces más resistentes a los agentes desinfectantes. No obstante, para que los desinfectantes sean útiles en la eliminación de estas biopelículas, deberán primero saturarlas para poder eliminar los microorganismos presentes (Baamonde, 2013; Tamayo, 2011; Sánchez-Saldaña & Anduaga-Sáenz, 2005; Cornelia Bischofberger, Mº José Gonzalez, Rafael Herruzo, Felisa Jaen, Maxima Lizan Garcia, Aurora Sacristán, Marta Piriz, 2014).

1.4.3.6 Estabilidad

La estabilidad está relacionada con el tiempo en el que el desinfectante en solución pierde su efectividad, puede sufrir alteraciones, contaminarse, sufrir oxidaciones o perder sus propiedades, debido a estos fenómenos se debe procurar usar la cantidad suficiente y no



guardar o almacenar para un posterior uso. En el caso de desinfectantes fotosensibles se debe usar frascos ámbar o fotorresistentes. Por lo general, se recomienda el uso de soluciones preparadas recientemente y el tapado adecuado de los frascos que contienen los desinfectantes y las diluciones de los mismos (Tamayo, 2011; Sánchez-Saldaña & Anduaga-Sáenz, 2005; Cornelia Bischofberger, Mº José Gonzalez, Rafael Herruzo, Felisa Jaen, Maxima Lizan Garcia, Aurora Sacristán, Marta Piriz, 2014).

1.4.3.7 Presencia de materia orgánica

La presencia de materia orgánica o restos orgánicos de cualquier tipo, como comida, grasas, sangre, heces, orina, suero, pus, tierra, entre otros, interfieren de manera negativa en la acción microbicida del desinfectante, y por ende en su efectividad. Esta materia orgánica tiende a proteger a los microorganismos, generando una inactivación o inhibición de la actividad germicida del desinfectante. Estos fenómenos están mediados por reacciones químicas que generan componentes inertes por precipitación o produciendo complejos de un menor poder germicida, que a su vez generen un consumo del principio activo presente en el desinfectante. Sin embargo, los agentes clorados se inactivan en presencia de materia orgánica, el yodo tiende a precipitar al estar en contacto con proteínas. Las sales o minerales presentes en las aguas duras disminuyen la actividad antimicrobiana de los amonios cuaternarios (Baamonde, 2013; Tamayo, 2011; Sánchez-Saldaña & Anduaga-Sáenz, 2005; Cornelia Bischofberger, Mº José Gonzalez, Rafael Herruzo, Felisa Jaen, Maxima Lizan Garcia, Aurora Sacristán, Marta Piriz, 2014).

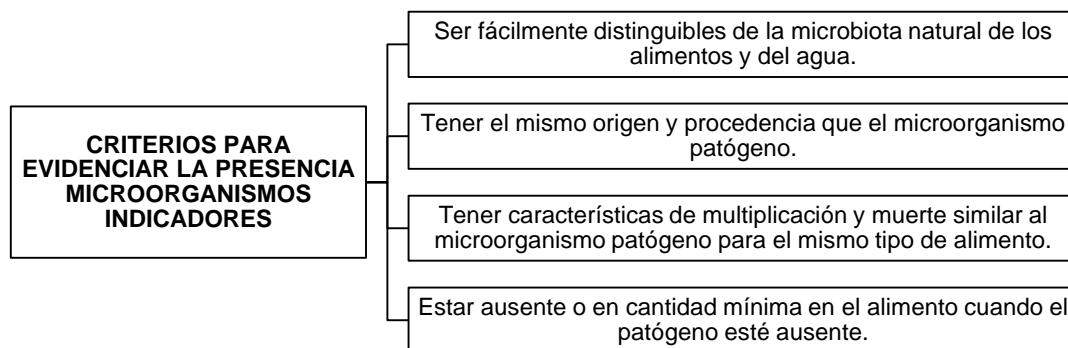
1.5 Microorganismos indicadores de higiene y calidad

Los microorganismos indicadores de higiene y calidad son aquellos que presentan un comportamiento semejante a los patógenos cuando se encuentran presentes en los alimentos. Sin embargo, no representan un peligro directo para la salud del consumidor, pero su existencia en ciertos niveles es muy útil para determinar la calidad del alimento. Estos microorganismos pueden indicar o evidenciar la posibilidad de prácticas inadecuadas de higiene durante la exposición, manipulación, transporte y conservación de los alimentos. Así también, permiten evidenciar la presencia de un peligro potencial para la salud, pudiendo inferir que los microorganismos patógenos o sus toxinas se encuentran en similar concentración y que el comportamiento de ambos microorganismos, es semejante al encontrarse expuestos a diferentes factores como pH, temperatura, actividad acuosa, presencia de nutrientes, resistencia bacteriana, entre otros (Salud, 2015; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, & Gutiérrez-Builes, 2017; Campuzano, Mejía Flórez, Ibarra, & Pabón



Sánchez, 2015). Los microorganismos indicadores a diferencia de los microorganismos patógenos, son más rápidos, económicos y fáciles de detectar, pero también existen más condiciones o criterios que permiten determinar su presencia que pueden o no cumplirse (Figura 3) (Salud, 2015; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, & Gutiérrez-Builes, 2017; Campuzano, Mejía Flórez, Ibarra, & Pabón Sánchez, 2015).

Figura 3. Criterios para evidenciar la presencia microorganismos indicadores de higiene y calidad.



Fuente. (Autores)

Frecuentemente los microorganismos indicadores más utilizados o difundidos para determinar la falta de higiene durante el procesamiento industrial o artesanal de los alimentos son el grupo de bacterias coliformes (Salud, 2015; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, & Gutiérrez-Builes, 2017; Campuzano, Mejía Flórez, Ibarra, & Pabón Sánchez, 2015).

1.5.1 Coliformes totales

Los microorganismos del grupo coliforme son considerados uno de los principales indicadores de higiene y sanidad en la producción de alimentos y diversos productos procesados. Estas bacterias permiten evaluar microbiológicamente la eficiencia de los procedimientos de limpieza y desinfección o determinar la calidad del agua, ya que tienen la capacidad de reproducirse en los biofilms que se forman en las tuberías de distribución de agua potable. Sin embargo, se encuentran principalmente en el intestino de los humanos y de animales de sangre caliente, pero también se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza en suelos, vegetales semillas y agua. Las bacterias que forman el grupo coliforme pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, incluyendo los géneros: *Escherichia*,



Enterobacter, Citrobacter y Klebsiella. Se trata de bacilos cortos Gramnegativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos que fermentan la lactosa a 35°C +/- 2°C en un tiempo alrededor de 24 h +/- 2 h, con producción de ácido y gas, catalasa positiva, que en su mayoría son móviles, debido a la presencia de flagelos perítricos (Salud, 2015; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, & Gutiérrez-Builes, 2017; Campuzano, Mejía Flórez, Ibarra, & Pabón Sánchez, 2015).

1.5.2 Coliformes fecales

Los coliformes fecales y *E. coli* particularmente se consideran como un subgrupo de los coliformes totales. Las bacterias de este grupo están catalogadas como indicadores de contaminación de origen fecal, así como también a condiciones inadecuadas de manipulación de alimentos o contaminación post procesamiento. A diferencia de los coliformes totales, los fecales tienen la capacidad de crecer a mayores temperaturas por los que son denominados termotolerantes y se encuentran presentes en las heces fecales de seres humanos y animales de sangre caliente. Sin embargo, alrededor del 90 a 95 % de los coliformes fecales, se trata de *E. coli* y ciertas especies de *Klebsiella* y *Citrobacter*.

Los coliformes fecales son bacilos cortos Gramnegativos, no esporulados, aerobios o anaerobios facultativos capaces de fermentar la lactosa a 44,5°C +/- 0.2°C en tiempo estimado de 48h +/- 2h, con producción de ácido, gas e indol (Salud, 2015; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, & Gutiérrez-Builes, 2017; Campuzano, Mejía Flórez, Ibarra, & Pabón Sánchez, 2015).

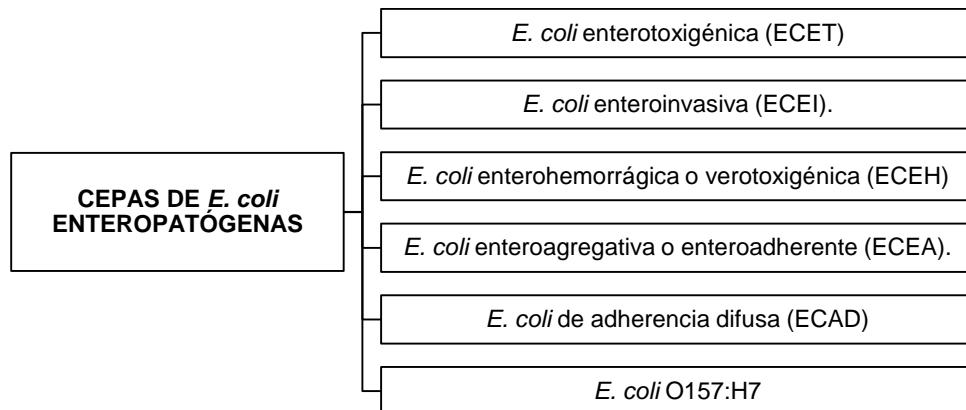
1.5.3 *E. coli*

E. coli es un microrganismo que se caracteriza por tener como hábitat primario el tracto intestinal de hombre y animales de sangre caliente, por lo que es considerado un indicador de contaminación fecal en alimentos y agua (alimentos procesados y no procesados, vegetales frescos, agua potable, etc.). *E. coli* es un bacilo corto Gramnegativo, no esporulado, aerobio o anaerobio facultativo capaz de fermentar la lactosa y glucosa a 44,5°C +/- 0.2°C en tiempo estimado de 48h +/- 2h, produce indol a partir de triptófano, reduce los nitritos a nitratos, descarboxila la L-ornitina y su prueba de IMViC es (+/+/-/-). Existen varias cepas de esta bacteria consideradas patógenas para los seres humanos causantes de enfermedades graves como infecciones en las vías urinarias, sepsis y meningitis, tanto en pacientes inmunocompetentes e inmunodeprimidos. Sin embargo, existen 6 cepas de *E. coli* enteropatógenas causantes de enfermedades en el tracto



gastrointestinal (figura 4) (Salud, 2015; Ríos-Tobón, Agudelo-Cadavid, & Gutiérrez-Builes, 2017; Campuzano, Mejía Flórez, Ibarra, & Pabón Sánchez, 2015).

Figura 4. Cepas de *E. coli* enteropatógenas.



Fuente. (Autores)

2 METODOLOGÍA

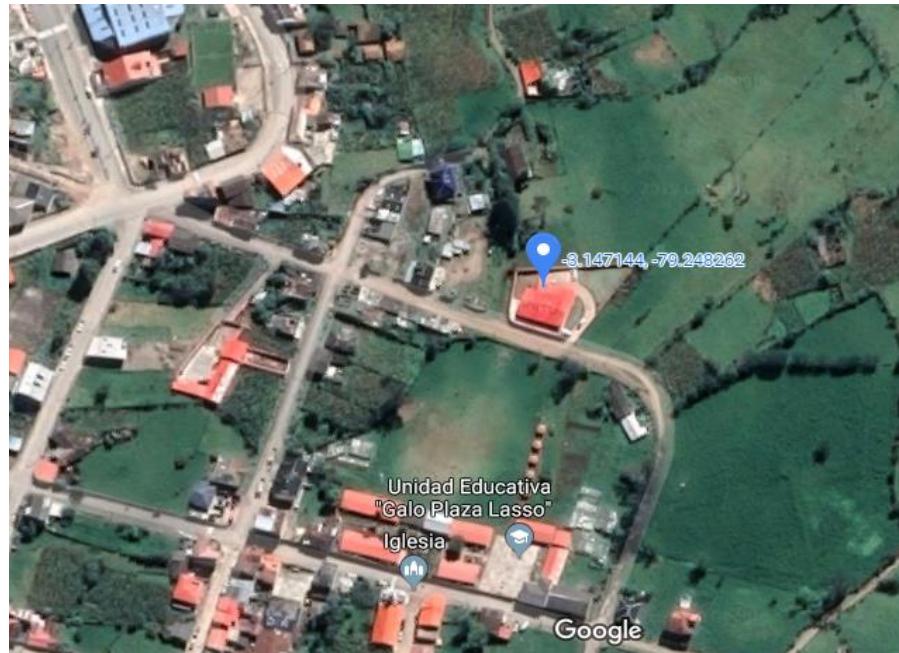
2.1 Tipo y diseño de estudio

Este estudio se basó en una investigación descriptiva, observacional, de diseño transversal.

2.2 Área de estudio

El área de estudio fue la zona de producción de la planta láctea “New Lac”, empresa encargada de la elaboración de queso fresco y queso mozzarella, la misma que se encuentra ubicada en la provincia del Azuay, cantón San Fernando (Figura 5).

Figura 5. Ubicación geográfica del área de estudio.



Fuente. (Google maps)

2.3 Muestreo

El muestreo se realizó en las superficies inertes regulares e irregulares que estuvieron en contacto con el alimento en el área de producción de la empresa (Anexo 5).

2.3.1 Tamaño de la muestra

Se muestrearon un total de 240 muestras entre superficies inertes regulares e irregulares, las cuales se tomaron de forma aleatoria del total del universo y se ensayaron por duplicado durante dos días seguidos por dos semanas consecutivas. Se procedió a tomar 30 muestras antes del PLD y 30 muestras después del PLD en el primer día de muestreo de la primera semana. Se tomó la misma cantidad de muestras antes y después del PLD en el segundo día de muestreo de la primera semana y de igual manera se trabajó durante la segunda semana consecutiva. El desinfectante ACL 40 fue utilizado a una concentración del 5% y un tiempo de exposición de 30 minutos, condiciones establecidas por la empresa y presentes en las indicaciones de la ficha técnica del producto.

2.3.2 Toma de muestra

El muestreo se llevó a cabo de manera aleatoria en las superficies inertes regulares e irregulares en días normales de producción de la fábrica mediante el método del hisopo utilizando la dilución 1:10. El desinfectante fue aplicado mediante contacto directo en forma



de chorro, en donde la superficie a desinfectar fue empapada directamente con la solución del agente químico en estudio. El PLD fue verificado por los autores en conjunto con la supervisora de producción de la planta mediante “check list”, de modo que el mismo haya cumplido especificaciones internas de la empresa.

Las muestras fueron transportadas en un cooler apropiado para su conservación a temperatura de refrigeración (2-8 °C), para el posterior análisis en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Universidad de Cuenca (Anexo 6).

2.4 Manejo de datos

2.4.1 Criterios de inclusión

Superficies inertes regulares e irregulares que estaban en contacto con los alimentos en el área de producción de la planta, antes y después del PLD.

2.4.2 Criterios de exclusión

Superficies inertes regulares e irregulares del área de producción utilizadas y/o que sufrían un proceso térmico (Pasteurización).

2.5 Materiales, equipos y reactivos

En la tabla 1 se detallan los materiales, equipos y reactivos utilizados en esta investigación.

Tabla 1. Materiales, equipos y reactivos.

MATERIALES	EQUIPOS			REACTIVOS
	Equipo	Código	Marca	
Erlenmeyer (1000ml)	Balanza Electrónica	14952	OHAUS	ACL 40 al 5%
Pipetas volumétricas (10ml)	Contador de colonias	91980	QUEBEC	Agua Peptonada Bufferada 3M
Bureta (1000ml)	Autoclave	91997	All AMERICAN	Agua destilada
Tubos tapa rosca (12.5cm*1.8cm * 1.6cm)	Estufa	91974	FANEN	Alcohol 70%
Varilla de vidrio	Nevera	23392603	ECASA	Alcohol industrial (94%)
Lámparas de alcohol	Cocineta	362581	HACEB	Placas Petrifilm 3M: <i>E. coli</i> /Coliformes



Espátulas metálicas	Pipetas automáticas (100-1000 ml)	163654	BOECO	
Puntas azules estériles				
Hisopos de madera (15 cm)				
Papel Aluminio				
Plantillas estériles para toma de muestra (área central 100cm ²)				
Dispersor de placas Petrifilm				
Marcador indeleble				
Frascos de poliestireno (500ml)				

Fuente. (Autores)

2.6 Métodos y Técnicas de Análisis

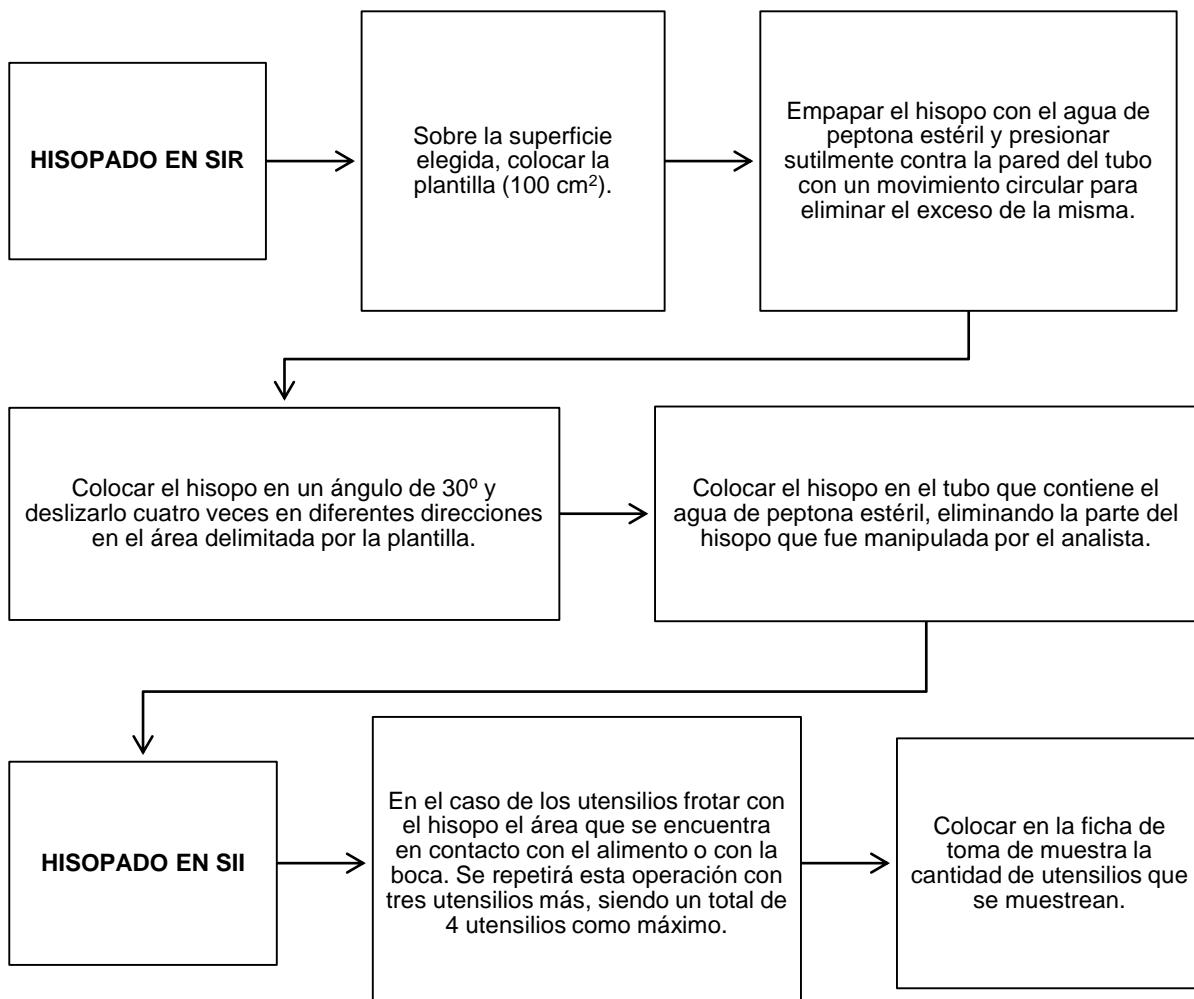
2.6.1 Método del Hisopo

El método del hisopo o hisopado es muy utilizado para el muestreo de superficies inertes regulares e irregulares tales como: equipos, utensilios, mesas de trabajo, tablas de picar, bandas transportadoras, cortadoras de embutidos, cortadoras de pan, mezcladoras, tolvas, entre otros (Norma Peruana, Resolución ministerial 463; 2007; Michanie, 2015)

- **Fundamento**

El método del hisopo consiste en frotar o restregar en un área determinada un hisopo humedecido ligeramente en una solución diluyente, en donde el hisopo y la solución diluyente deben estar previamente esterilizados (Figura 6) (Norma Peruana, Resolución ministerial 463; 2007; Michanie, 2015).

Figura 6. Método del hisopo.



Fuente: (Norma Peruana, Resolución ministerial 463; 2007)

2.6.2 Análisis microbiológico

2.6.2.1 Placas Petrifilm® *E. coli*/coliformes

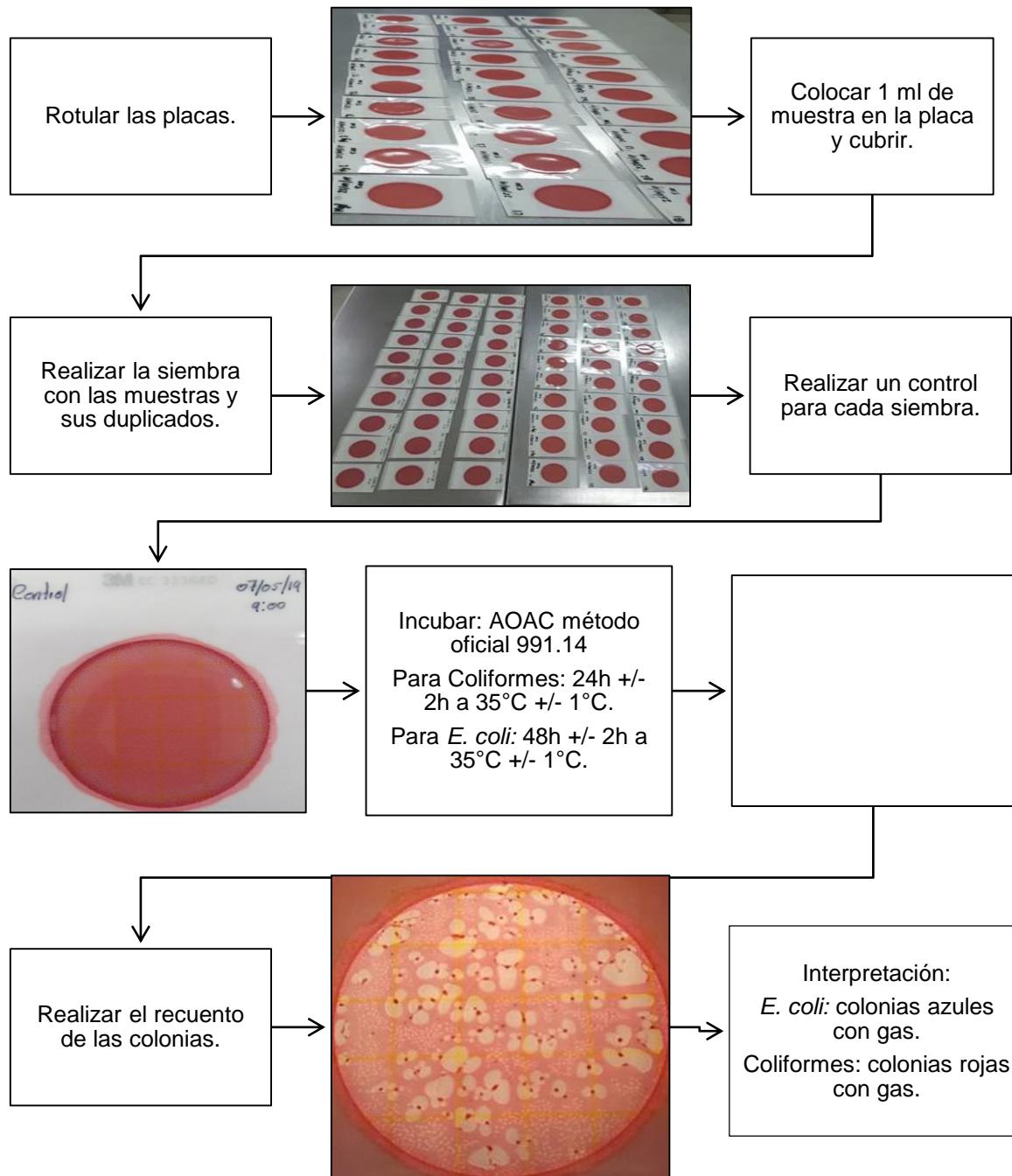
Las placas Petrifilm están formadas por una lámina de papel delgada, en la cual se muestra impresa una cuadricula que facilita el recuento de las colonias. Estas placas están recubiertas por una capa de polipropileno que permite atrapar el gas que pueden provocar algunas bacterias, presentan un medio de cultivo selectivo y un agente solidificante soluble en agua. Además, cuentan con la presencia de indicadores de pH que colorean las colonias y dependiendo de la placa Petrifilm, pueden colorear el medio de cultivo, para mejorar y facilitar su identificación (Company, 2019).



- **Fundamento**

Las Placas Petrifilm® para el recuento e identificación de *E. coli*/coliformes se encuentran formadas por un agente gelificante soluble en agua a temperatura ambiente, nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB) y dos indicadores, el primero es un indicador de actividad de glucuronidasa y el segundo es un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. Las colonias de *E. coli* en su mayoría produce beta-glucuronidasa, que genera una precipitación azul asociada a la colonia. Estas bacterias fermentan la lactosa produciendo gas que es atrapado en las placas en la película superior. En el caso de *E. coli* la identificación se la realiza por presentar colonias entre azules, mientras que los coliformes son colonias de bastoncillos Gram-negativos que producen ácido y gas produciendo el oscurecimiento de gel por el indicador de pH generando colonias de color rojizo o rojo-violetas (Figura 7) (Center, 2008).

Figura 7. Flujograma del procedimiento de siembra en las Placas Petrifilm® 3M: *E. coli*/coliformes.



Fuente. (Autores)



2.7 Cálculo y expresión de resultados

2.7.1 Cálculo para superficies inertes regulares (SIR)

El cálculo de las colonias presentes en las superficies inertes regulares de la dilución utilizada (1:10), resultó del producto del número de colonias contadas por el factor de dilución (1) y por el volumen de disolución utilizado en el muestreo (10 ml), todo esto se dividió para el área de la superficie muestreada (100 cm²).

$$\text{Colonias de coliformes totales o } E. coli = \frac{\text{número de colonias contadas} * 1 * 10}{100 \text{ cm}^2}$$

En donde los resultados se expresan de la siguiente forma:

Superficies inertes regulares: UFC/cm².

2.7.2 Cálculo para superficies inertes irregulares (SII)

El cálculo de las colonias presentes en las superficies inertes irregulares de la dilución utilizada (1:10), resultó del producto del número de colonias contadas por el factor de dilución (1) y por el volumen de la disolución usado en el muestreo (10 ml), todo esto se dividió para el número de superficies muestreadas.

$$\text{Colonias de coliformes totales o } E. coli = \frac{\text{número de colonias contadas} * 1 * 10}{\text{número de superficies muestreadas}}$$

En donde los resultados se expresan de la siguiente forma:

Superficies inertes irregulares: UFC/superficie muestreada

2.8 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron ingresados en una tabla de datos en Microsoft Excel 2016 para su posterior análisis. La eficacia del desinfectante fue valorada estadísticamente mediante la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney tomando en consideración que los resultados de esta investigación no fueron paramétricos (Anexo 7). El software estadístico utilizado fue



el Stata 10.0, en el cual el análisis fue realizado con un nivel de significancia del 5%. Se plantearon dos hipótesis de trabajo (Pardo & Ruiz, 2010).

Hipótesis nula (H_0): Población A= Población B

Hipótesis alterna (H_a): Población A > Población B

En donde:

Población A: UFC/cm² SIR y SII antes del PLD.

Población B: UFC/cm² SIR y SII después del PLD.

En consecuencia, se acepta la hipótesis nula (H_0) y se rechaza la hipótesis alterna (H_a), siempre y cuando todo valor de probabilidad (p) sea mayor o igual a 0.05.

3 RESULTADOS

Una vez realizados los recuentos microbiológicos de la evaluación de la eficacia del desinfectante líquido alcalino clorado (ACL 40) frente a coliformes totales y *E. coli* en las superficies en contacto con el alimento en el área de producción de la empresa New Lac, se obtuvieron los siguientes resultados:

3.1 Recuento de coliformes totales antes de la desinfección en superficies inertes regulares e irregulares

Se realizó el recuento de colonias de coliformes totales en las superficies inertes regulares e irregulares del área de producción antes de la desinfección con ACL 40, los mismos que fueron comparados con los valores referenciales establecidos en la Norma Peruana, Resolución ministerial 463; 2007 (Tabla 2). En donde, se observó que en todos los días de muestreo la mayoría de los recuentos están sobre los valores de la normativa. Sin embargo, muy pocas superficies cumplían con la norma, como en el muestreo del **día 1**: tela de recubrimiento (T2), molde grande (MG1); en el muestreo del **día 2**: gavetas plásticas (GP2, GP3), moldes grandes (MG1, MG2), tanque de salmuera (S2); en el muestreo del **día 3**: barteza (B1), telas de recubrimiento (T2, T3), gaveta plástica (GP3), pala de agitación (P1), tanque de salmuera (S3); finalmente en el muestreo del **día 4**: tela de recubrimiento (T1),



cantarilla (C1) y molde grande (MG2). Cabe recalcar que también se reportaron en crecimientos MNPC los cuales carecen de un valor numérico, pero que indican una alta carga microbiana.



Tabla 2. Promedio de los recuentos de coliformes totales antes de la desinfección con ACL 40.

SUPERFICIES INERTES														
NÚMERO DE SUPERFICIES	REGULARES		MUESTREO				IRREGULARES		MUESTREO					
			Semana 1		Semana 2				Semana 1		Semana 2			
	Codificación	Valor referencial	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4			Codificación	Valor referencial	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
			UFC/cm ²								UFC/superficie muestreada			
1	B1	<1 UFC/cm ²	20	35	0,3	9,35								
2	B2		22	5,3	4,5	6,55								
3	B3		MNPC	26	12,5	8,25								
4	T1		1,35	1,2	2,15	0,30								
5	T2		0,6	2,55	0,3	2,50								
6	T3		5,65	1,6	0,55	1,55								
7	TM1		52	38	7,6	28,00								
8	TM2		22	49	8,5	17,00								
9	TM3		36	MNPC	39	12,45								
10	GP1		5,7	1,9	5,65	1,85								
11	GP2		8,2	0,25	1,4	1,20								
12	GP3		24	0,5	0,4	2,35								
13	P1		12,2	9,7	0,2	1,75								
14	P2		30	14,05	56	4,15								
15	P3		24	34	8,95	8,85								
16	C1		7,45	2,15	2,2	0,95								
17	C2		2,45	5,65	1,25	1,60								
18	C3		5,55	1,35	8,75	4,20								
19	MG1		0,4	0,5	1,75	1,35								
20	MG2		3,55	0,5	5,65	0,80								
21	MG3		1,3	2,6	2,45	2,15								
22	S1		48	2,65	14,2	3,75								
23	S2		31	0,45	1,35	4,10								
24	S3		53	2,9	0,75	1,25								
25							Ce	<10 UFC/superficie muestreada	1400	MNPC	475,00	1100,00		
26							M1		675	1575	475	332,50		
27							M2		901	1580	473	330		
28							M3		898	1570	478	335		
29							Li		330,00	58,33	188,33	316,67		
30							Cu		2400	MNPC	2000	637,50		

* En el caso de las SII el recuento obtenido es expresado para el numero de superficies muestreadas; Ce: 3 cernidores, M: 4 moldes pequeños en cada número (M1, M2, M3, en total 12 moldes pequeños), Li: 3 liras y Cu: 2 cuchillos.

Fuente: (Autores)



3.2 Recuento de *E. coli* antes de la desinfección en superficies inertes regulares e irregulares

Se realizó el recuento de colonias de *E. coli* en las superficies inertes regulares e irregulares del área de producción antes de la desinfección con ACL 40, los mismos que fueron comparados con los valores referenciales establecidos en la Norma Peruana, Resolución ministerial 463; 2007 (Tabla 3). En donde, se observó ausencia de *E. coli* en la mayoría de las superficies inertes cumpliendo con la normativa. Sin embargo, algunas superficies incumplían los valor establecidos en la norma, como en el muestreo del **día 1**: barteza (B1), pala de agitación (P3), cantarillas (C1, C3), tanques de salmuera (S1, S2), lira (Li); en el muestreo del **día 2**: tapa metálica (TM3), pala de agitación (P1), cantarilla (C1), tanque de salmuera (S1), cernidor (Ce); en el muestreo del **día 3**: tapa metálica (TM1), tanque de salmuera (S2), cernidor (Ce), cuchillo (Cu); finalmente en el muestreo del **día 4**: barteza (B3), tapa metálica (TM3), cantarilla (C2), tanques de salmuera (S1, S2), cernidor (Ce), y moldes pequeños (M1, M2, M3). Cabe recalcar que la superficie que reportó presencia de *E. coli* en todos los muestreos fue el tanque de salmuera (S1).



Tabla 3. Recuentos de *E. coli* antes de la desinfección con ACL 40.

NÚMERO DE SUPERFICIES	REGULARES		SUPERFICIES INERTES				IRREGULARES		MUESTREO			
			MUESTREO		Semana 1		Semana 2		Semana 1		Semana 2	
	Codificación	Valor referencial	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4			Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
			Ausencia/cm ²						Ausencia/superficie muestreada			
1	B1	Ausencia/cm ²	+	-	-	-	Ausencia/superficie muestreada	Ausencia/	-	-	-	-
2	B2		-	-	-	-			-	-	-	-
3	B3		-	-	-	+			-	-	-	-
4	T1		-	-	-	-			-	-	-	-
5	T2		-	-	-	-			-	-	-	-
6	T3		-	-	-	-			-	-	-	-
7	TM1		-	-	+	-			-	-	-	-
8	TM2		-	-	-	-			-	-	-	-
9	TM3		-	+	-	+			-	-	-	-
10	GP1		-	-	-	-			-	-	-	-
11	GP2		-	-	-	-			-	-	-	-
12	GP3		-	-	-	-			-	-	-	-
13	P1		-	+	-	-			-	-	-	-
14	P2		-	-	-	-			-	-	-	-
15	P3		+	-	-	-			-	-	-	-
16	C1		+	+	-	-			-	-	-	-
17	C2		-	-	-	+			-	-	-	-
18	C3		+	-	-	-			-	-	-	-
19	MG1		-	-	-	-			-	-	-	-
20	MG2		-	-	-	-			-	-	-	-
21	MG3		-	-	-	-			-	-	-	-
22	S1		+	+	+	+			-	-	-	-
23	S2		+	-	-	+			-	-	-	-
24	S3		-	-	-	-			-	-	-	-
25							Ce	Ausencia/ superficie muestreada	-	+	+	+
26							M1		-	-	-	+
27							M2		-	-	-	+
28							M3		+	-	-	+
29							Li		-	-	-	-
30							Cu		-	-	+	-

* Ausencia (-); Presencia (+)

* En el caso de las SII el recuento obtenido es expresado para el numero de superficies muestreadas; Ce: 3 cernidores, M: 4 moldes pequeños en cada número (M1, M2, M3, en total 12 moldes pequeños), Li: 3 liras y Cu: 2 cuchillos.

Fuente: (Autores)



3.3 Recuento de coliformes totales después de la desinfección en superficies inertes regulares e irregulares

Se realizó el recuento de las colonias de coliformes totales en las superficies inertes regulares e irregulares del área de producción después de la desinfección con ACL 40, los mismos que fueron comparados con los establecidos en la Norma Peruana, Resolución ministerial 463; 2007 (Tabla 4). Se determinó que la mayoría de los recuentos cumplen con la normativa, a excepción de ciertas superficies, como en el muestreo del **día 1**: Bartezas (B2, B3); muestreo del **día 2**: tapa metálica (TM3), moldes pequeños (M1, M2, M3); en el muestreo del **día 3**: barteza (B1), tapa metálica (TM2), pala de agitación (P2); por último, en el muestreo del **día 4**: barteza (B3), tanque de salmuera (S3) y los moldes pequeños (M1, M2, M3).



Tabla 4. Promedio de los recuentos de coliformes totales después de la desinfección con ACL 40

NÚMERO DE SUPERFICIES	SUPERFICIES INERTES											
	REGULARES		MUESTREO				IRREGULARES		MUESTREO			
			Semana 1		Semana 2				Semana 1		Semana 2	
	Codificación	Valor referencial	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Codificación	Valor referencial	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
			UFC/cm ²						UFC/superficie muestreada			
1	B1	<1 UFC/cm ²	0,25	0	1,15	0,55						
2	B2		1,05	0	0	0						
3	B3		3,25	0	0	1,25						
4	T1		0	0	0	0						
5	T2		0	0	0	0						
6	T3		0	0	0	0						
7	TM1		0	0,4	0,6	0,95						
8	TM2		0,15	0	1,35	0						
9	TM3		0	1,75	0	0						
10	GP1		0	0,75	1	0						
11	GP2	>1 UFC/cm ²	0	0,9	0	1,00						
12	GP3		0,85	0,35	0	0						
13	P1		0	0	0	0						
14	P2		0	0	1,5	0						
15	P3		0	0	0	0						
16	C1		0	0	0	0						
17	C2		0	0	0	0						
18	C3		0	0	0	0,40						
19	MG1		0	0	0	0						
20	MG2		0	0	0	0						
21	MG3		0	0	0	0						
22	S1	>10 UFC/superficie muestreada	0	0,1	0,55	0,45						
23	S2		0	0,6	0	0						
24	S3		0	0	0	1,60						
25						Ce	>10 UFC/superficie muestreada	0	0	0	0	
26						M1		6,25	13,75	41,25	21,67	
27						M2		6,25	11,25	47,50	23,33	
28						M3		8,75	13,75	36,25	23,33	
29						Li		0	0	0	0	
30						Cu		0	0	0	0	

* En el caso de las SII el recuento obtenido es expresado para el numero de superficies muestreadas; Ce: 3 cernidores, M: 4 moldes pequeños en cada número (M1, M2, M3, en total 12 moldes pequeños), Li: 3 liras y Cu: 2 cuchillos.

Fuente: (Autores)



3.4 Recuento de *E. coli* después de la desinfección en superficies inertes regulares e irregulares

Luego la desinfección con ACL 40 se determinó ausencia *E. coli* en todas las superficies inertes regulares e irregulares muestreadas, cumpliendo con la Norma Peruana, Resolución ministerial 463; 2007, la cual exige la ausencia de este microorganismo (Datos no mostrados).

3.5 Análisis estadístico mediante la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney

En la tabla 5 se puede visualizar todos los datos estadísticos obtenidos tanto para coliformes totales como para *E. coli* antes y después del PLD, en donde para ambos microorganismos el valor de probabilidad (p) es menor a 0.05. En consecuencia, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna, la cual dice que: “La población de coliformes totales y *E. coli* antes del PLD es mayor a la población de coliformes totales y *E. coli* después del PLD” (Pardo & Ruiz, 2010).

Tabla 5. Valores estadísticos obtenidos mediante la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney tanto para coliformes totales como para *E. coli*.

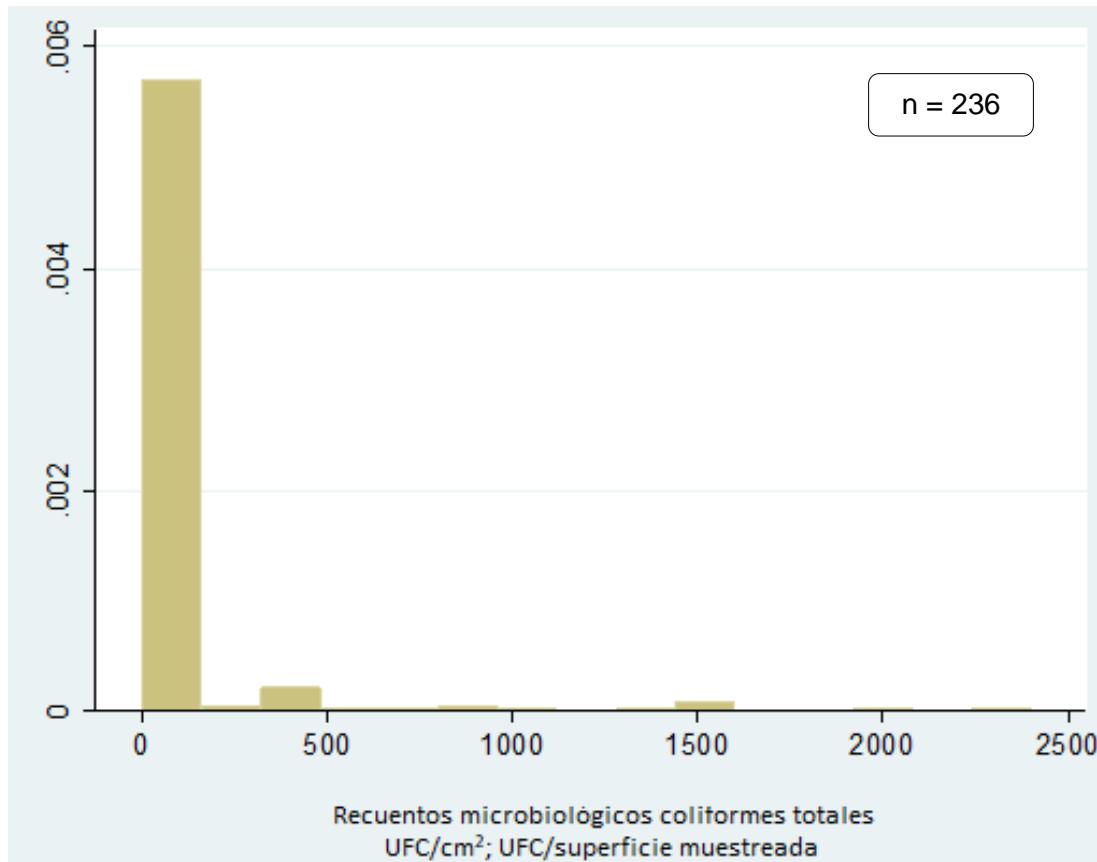
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	COLIFORMES TOTALES	<i>E. coli</i>
Número de observaciones	236	240
Media aritmética	83.68	0.26
Desviación estándar	310.91	1.28
Mínimo	0 UFC/cm ² ; UFC/superficie muestreada	0 UFC/cm ² ; UFC/superficie muestreada
Máximo	2400 UFC/cm ² ; UFC/superficie muestreada	10 UFC/cm ² ; UFC/superficie muestreada
Valor probabilidad (p)	<0.001	

Nota: Existen 236 observaciones de las 240 establecidas inicialmente para coliformes totales debido a que existieron 4 recuentos MNPC, los cuales no se tomaron en cuenta para el análisis estadístico, ya que carecen de un valor numérico.

Fuente: (Autores)

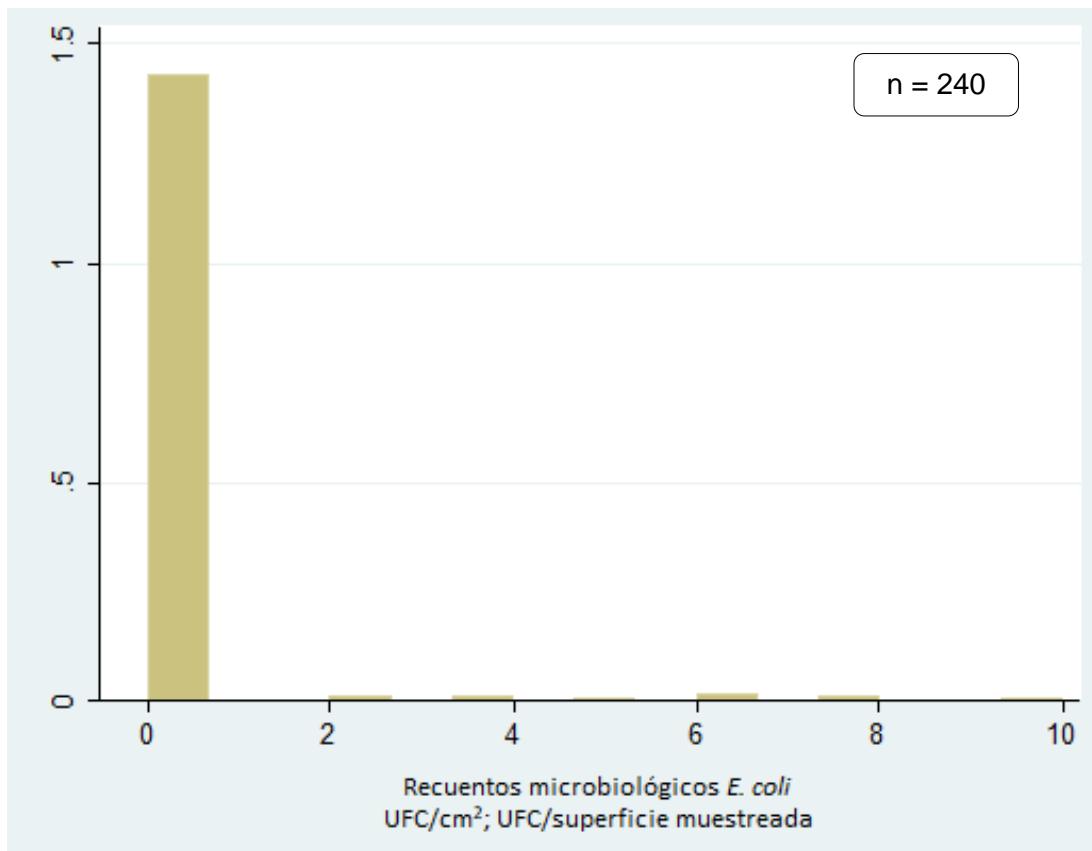
Se utilizó la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney, debido a que los resultados fueron no paramétricos, es decir seguían una distribución anormal, encontrándose recuentos muy dispersos de la media aritmética. El espaciamiento de estos recuentos fue muy evidente para el caso de coliformes totales, ya que el valor numérico de la desviación estándar fue significativamente alto. Sin embargo, para poder observar dicha dispersión de los recuentos microbiológicos se utilizaron histogramas tanto para coliformes totales como para *E. coli*.

Gráfico 1. Histograma para coliformes totales antes y después del PLD.



Fuente: (Autores)

Interpretación: En el histograma para coliformes totales se puede observar los recuentos microbiológicos a los cuales los denominamos datos asimétricos a la izquierda, debido a que la mayoría de los recuentos se encuentran en la región comprendida entre 0 y 500 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestreada. La dispersión de los datos antes y después del PLD es muy evidente, ya que el valor mínimo es cero y el valor máximo es de 2 400 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestreada.

Gráfico 2. Histograma para *E. coli* antes y después del PLD.

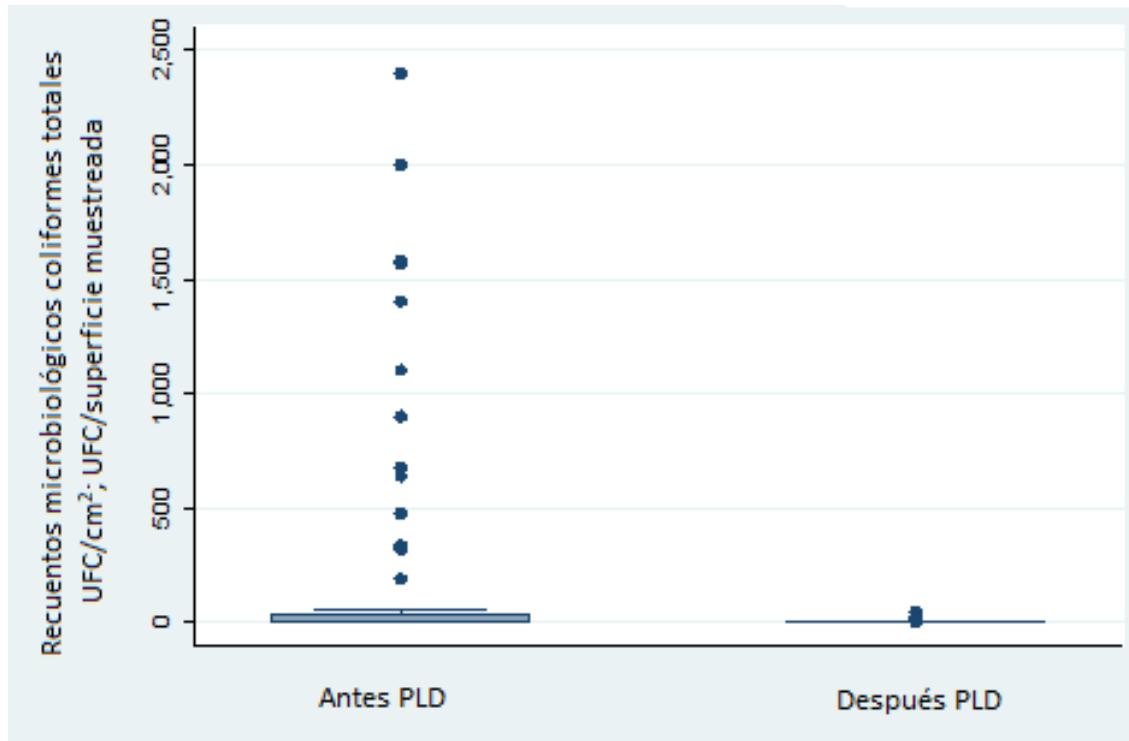
Fuente: (Autores)

Interpretación: En el histograma para *E. coli* se puede observar los recuentos microbiológicos a los cuales los denominamos datos asimétricos a la izquierda, debido a que la mayoría de los recuentos se encuentran en la región comprendida entre 0 y 2 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestreada. La dispersión de los datos antes y después del PLD es evidente, ya que el valor mínimo es 0 y el valor máximo es de 10 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestreada.

Los histogramas solo nos permiten evidenciar la dispersión de los recuentos microbiológicos, por lo tanto, para poder comparar las poblaciones bacterianas tanto de coliformes totales como *E. coli* antes y después del PLD y ratificar la aceptación de la hipótesis alterna, se utilizaron los diagramas de cajas y bigotes (box plots). Estos gráficos permiten verificar la dispersión de un conjunto de datos y compararlos en función de variables, siendo dichas variables en este estudio la población de coliformes totales y *E.*

coli antes del PLD y la población de coliformes totales y *E. coli* después del PLD (Pardo & Ruiz, 2010).

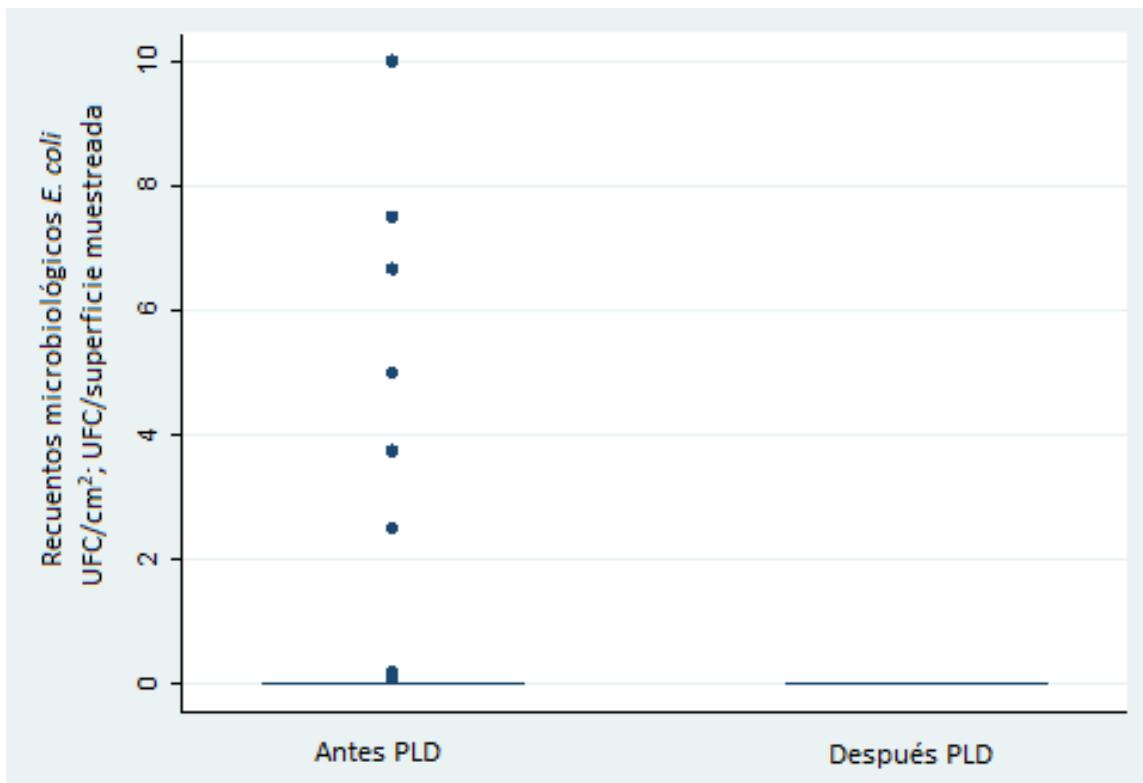
Gráfico 3. Diagrama de cajas y bigotes (box plots) para coliformes totales antes y después del PLD.



Fuente: (Autores)

Interpretación: En el diagrama de cajas y bigotes para coliformes totales se pudo observar que antes del PLD los datos estadísticos presentan un valor mínimo y máximo de 0 y 2.400 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestreada, respectivamente. El 50% de las colonias de coliformes totales se encontró por debajo de 6,25 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestreada. Despues del PLD se evidenció un valor mínimo y máximo de 0 a 47,5 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestreada, que, en comparación con la población bacteriana antes del PLD, se observó una disminución significativa de la misma. El 75% de coliformes totales después del PLD estuvo por debajo de 0,48 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestreada, demostrando así la eficacia del desinfectante ACL 40.

Gráfico 4. Diagrama de cajas y bigotes (box plots) para *E. coli* antes y después del PLD.



Fuente: (Autores)

Interpretación: En el diagrama de cajas y bigotes para *E. coli* se pudo observar que todos los recuentos microbiológicos antes del PLD presentaron un valor mínimo y máximo de 0 a 10 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestrada, en donde el 50% de los recuentos se encontraron por debajo de 0,26 UFC/cm² y/o UFC/superficie muestrada. Después del PLD se reportó ausencia en los recuentos, por ende, la eliminación de la población bacteriana. Demostrando así, la actividad microbicida del desinfectante ACL 40.

4 DISCUSIÓN

Mediante la utilización de los gráficos de cajas y bigotes (box plots) se demostró la reducción significativa de la población de coliformes totales y la eliminación de la población de *E. coli*, por ende, se pudo inferir sobre la acción microbicida del desinfectante ACL 40. En cuanto a coliformes totales la mayoría de las superficies cumplieron con los requisitos de la Norma Peruana, Resolución ministerial 463; 2007. Sin embargo, ciertas superficies



excedieron el valor sugerido en la misma, siendo las SII las que más contaminación bacteriana reportaron antes y después del PLD, lo que podría deberse a que fueron las de mayor manipulación por parte de los operarios. Si se compara con lo reportado por Yucta en el año 2012, quién en su estudio manifestó que la población bacteriana puede incrementarse por procesos de pasteurización deficientes, malas prácticas de manufactura y contaminación cruzada, factores que alteran significativamente la calidad microbiológica de las superficies en contacto con el alimento, se podría justificar la presencia de las bacterias coliformes totales en las superficies analizadas antes del PLD. Además, el escaso aseo y vestimenta inadecuada de los operarios, son considerados los factores más significativos en el incremento de la contaminación microbiológica en el área de producción de alimentos como lo menciona el estudio realizado por Galarza en el año 2010.

No obstante, Salas en el año 2007, indicó que existen microorganismos con grandes capacidades de adherirse a las superficies y son capaces de desarrollar *biofilms* a temperatura ambiente por falta de limpieza regular y adecuada. De igual manera, mencionó que la falta de higiene en los equipos de procesado hace que estos sean focos de contaminación potencialmente peligrosos, siendo la carga bacteriana incluso mayor a la de la materia prima.

Herráez en el año 2016 realizó un estudio en el que destaca la acción bactericida de un compuesto clorado frente a cepas de *E.coli* y coliformes totales, se observó que este producto es eficaz frente a estos microorganismos en todas las concentraciones y tiempos utilizados, en comparación con este estudio la acción bactericida del desinfectante ACL 40 frente a las mismas bacterias, se puede decir que ambos resultan igual de eficaces usandolos en las concentraciones y tiempos indicados por el fabricante (Jiménez Herráez, 2016).

Bedoya & Corredor en el año 2013, validaron la acción microbicida de 4 desinfectantes frente a *E. coli*, entre ellos un agente químico cuya composición química era el hipoclorito de sodio. Dicho desinfectante clorado se utilizó a diferentes concentraciones y tiempos, el cual presentó un excelente comportamiento a la concentración recomendada de 6,25% durante 10 minutos de exposición logrando eliminar totalmente a este microorganismo, al igual que el desinfectante ACL 40 al ser utilizado a una concentración de 5% durante 30 minutos de exposición. Además, mencionaron que los desinfectantes clorados poseen un



espectro de acción muy amplio para bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, incluso presentan actividad esporocida (Bedoya Salcedo & Corredor Barrera, 2013).

Además, Uriarte en el año 2012, comentó que las soluciones de hipoclorito de sodio al 2% y al 5% son liberadores de cloro que suministran una efectividad extremadamente alta a todo tipo de microorganismos incluido *E. coli*. Sin embargo, esta actividad en presencia de materia orgánica disminuye considerablemente. Así como también, evaluó el efecto de este desinfectante a concentraciones de 200, 500 y 800 ppm presentando una inhibición del 100% para este microorganismo. En cambio, Vélez y colaboradores en el año 2016, mencionaron que para contrarrestar el crecimiento y producir la eliminación de cepas de *E. coli*, los desinfectantes clorados deberían utilizarse a concentraciones iguales o superiores al 5% por un tiempo de exposición mínimo de 20 minutos (Uriarte, 2012).

Por último, es fundamental que las industrias alimentarias garanticen la inocuidad de sus productos al prevenir la aparición de brotes de ETAs (Enfermedades transmitidas por los alimentos), mediante la implementación de sistemas de gestión de calidad como es el caso de las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA), Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES) y Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP). La perfecta armonía entre estos programas asegura la calidad e inocuidad en la producción de los alimentos, generando satisfacción en los consumidores y aumentando el prestigio de las empresas procesadoras de alimentos. Las mismas que podrían competir a nivel nacional e internacional, en donde los estándares de calidad son muy rigurosos (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO, 2016; Galarza, 2010; Yucta, 2012).

5 CONCLUSIONES

En este trabajo de titulación se evaluó la eficacia del desinfectante ACL 40 utilizado a una concentración del 5% durante un tiempo de exposición de 30 minutos en las superficies inertes regulares e irregulares el área de producción de la empresa “NewLac”, el cual resultó eficaz, debido a que redujo significativamente la población de coliformes totales y eliminó la población de *E. coli*.



La hipótesis alterna propuesta en este trabajo de investigación es aceptada, ya que las poblaciones bacterianas en estudio fueron menores después del PLD. Situación que se evidenció mediante el análisis estadístico y los gráficos de cajas y bigotes (box plots).

Después de la desinfección con ACL 40 en el caso de coliformes totales la mayoría de superficies inertes cumplían con los requisitos de la Norma Peruana, Resolución ministerial 463; 2007, a excepción de ciertas superficies, la cuales excedían el valor de la misma. En el caso de *E. coli*, todos los recuentos microbiológicos reportaron ausencia de este microorganismo en todas las superficies inertes en estudio, cumpliendo así con la normativa, la cual exige la ausencia del microorganismo en cuestión.

Esta investigación proporciona, además, un respaldo de la acción bactericida del desinfectante ACL 40, garantizando de tal modo el cumplimiento del POES (Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento) de limpieza y desinfección.

6 RECOMENDACIONES

A partir de este trabajo de titulación se recomienda que el procedimiento de limpieza y desinfección sea controlado y verificado constantemente y exhaustivamente en todas las etapas de producción de los alimentos.

Considerando que la inocuidad del producto final depende de la calidad microbiológica de las superficies en contacto con el alimento en todas las etapas de elaboración de los mismos, se podría sugerir también la evaluación de la eficacia antimicrobiana del desinfectante ACL 40 frente a otros microorganismos patógenos, tales como, *Salmonella* sp., *Listeria monocytogenes*, y *Vibrio cholerae*.

Se aconseja también a la empresa “New Lac”, que en futuros estudios se podría plantear el análisis de la concentración óptima de uso del desinfectante ACL 40. Ya que, como se mencionó antes esta solución posee una gran actividad microbicia a una concentración de 5% durante un tiempo de exposición de 30 minutos. Por lo que, al determinar la eficacia a menores concentraciones y en menor tiempo de contacto, se podría disminuir la cantidad de desinfectante y el tiempo de labor en cada proceso de desinfección, lo que demostraría ser beneficioso para la empresa debido al ahorro de recursos económicos.



Finalmente, se podría sugerir también la utilización de otro desinfectante sugerido para el uso en industrias alimenticias y la alternancia con el uso de ACL 40, o en su defecto el cambio de desinfectante, ya que el mismo contiene cloro en su composición, y la literatura hace hincapié, que tanto detergentes como desinfectantes clorados son considerados productos tóxicos de mediana gravedad. Por lo tanto, el cambio por desinfectantes con ácido peracético o sales de amonio cuaternario es ideal, ya que su nivel de toxicidad es mínimo. El espectro de acción es igual y su utilización a nivel de industrias alimentarias es amplio, y la alternancia en el uso de los mismos es fundamental para evitar la generación de resistencia bacteriana.



7 BIBLIOGRAFIA

- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2011). Antisépticos y Desinfectantes.
- Agricultura, O. d. (2019). *Inocuidad y calidad de los alimentos*. Obtenido de Buenas prácticas de higiene y APPCC: <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/capacity-development/haccp/es/>
- Aguirre Alcantara, D. (2016). Calidad microbiológica y su relación con la vida útil en quesos frescos expendidos en tres mercados de trujillo . *Cientifi-k*, 4(1), 11-17.
- Ailin Martínez Vasallo, Nivian Montes de Oca, A. V. C. L. (2016). Determinación de indicadores sanitarios en quesos artesanales, 38(1), 64-66.
- Altamirano, Cuji, V. C. (2018). *Desarrollo del manual de Buenas Prácticas de Manufactura (B.P.M.) para la empresa Dulcifresa del cantón Cevallos, Tungurahua con proyección económica para implementación*. Retrieved from <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/27786/1/AL 673.pdf>
- Alexis Diomedi, Eliana Chacón, Luis Delpiano, Beatrice Hervé, M. Irene Jemenao, Myriam Medel, Marcela Quintanilla, Gisela Riedel, J. T. y M. C., Quintanilla, M., Riedel, G., & Tinoco, J. (2017). Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. *Revista Chilena Infectol*, 34(2), 19. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182017000200010>
- Andrade, C. A. P. (2017). EVALUACIÓN HIGIÉNICO – SANITARIA DE LA QUESERA ARTESANAL COD.Q 1 UBICADA EN LA PARROQUIA QUÍMIAG DEL CANTÓN RIOBAMBA, PROVINCIA DE CHIMBORAZO. Recuperado de <https://www.esPOCH.edu.ec/index.php/antecedentes.html>
- Arias, B. O., Asesor, S., Juan, M., & Ramos Gorbeña, C. (2018). *UNIVERSIDAD RICARDO PALMA Tesis para optar el título profesional de LICENCIADA EN BIOLOGÍA*. Retrieved from http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/URP/1317/Arias_o.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Baamonde, J. M. (2013). *Bioterios.com*. Obtenido de Métodos de limpieza, desinfección y esterilización.: <https://www.bioterios.com/post.php?s=2013-07-01-mtodos-de->



limpieza-desinfeccin-y-esterilizacin

- Britania. (2018). Agua Peptonada. Retrieved May 16, 2019, from https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a280db392c81.pdf
- Buñay Barahona, N. C., & Peralta Vásquez, F. K. (2015). Determinación del recuento de Aerobios mesófilos en leche cruda que ingresa a industrias Lacto Ochoa.
- Campuzano, S., Mejía Flórez, D., Ibarra, C. M., & Pabón Sánchez, P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C., 81-92. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n23/v13n23a08.pdf>
- Cervantes Jávita, M. P. (enero de 2019). *Universidad Central del Ecuador*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/17799/1/T-UCE-0008-CQU-077.pdf>
- Center, 3M. (2008). Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E. coli*/Coliformes. *Microbiology Products*, 3(1), 1-6.
- Company, M. M. (2019). 3M "Science applied to Life". Obtenido de Placas 3M™ Petrifilm™: https://www.3m.com.es/3M/es_ES/empresa-es/todos-productos-3m/?N=5002385+8711017+8711414+8716589&rt=r3
- Cornelia Bischofberger, Mº José Gonzalez, Rafael Herruzo, Felisa Jaen, Maxima Lizan Garcia, Aurora Sacristán, Marta Piriz, J. L. V. (2014). Guia de uso de desinfectantes en el ámbito sanitario de la Sociedad Española de Medicina Preventiva, Salud Pública e Higiene, 45.
- Díaz-Enriquez, E., Mayo-Abad, O., Miró-Frutos, I., Pérez-Gutiérrez, Y., & Tsoraeva, A. (2017). Determinación de la eficacia de los desinfectantes empleados en las áreas asépticas de un centro productor de biofarmacéuticos. *VacciMonitor*, 26(2), 54-59.
- Eirl, E. (2015). Análisis de la evaluación de desinfectantes y su eficacia en plantas de proceso para diferentes agentes ., 1-41.
- Food safety and quality: Buenas prácticas de higiene y APPCC. (2019). Retrieved May 15, 2019, from <http://www.fao.org/food/food-safety-quality/capacity-development/haccp/es/>
- González, G. H., Helena, G., & Blair, G. (2016). *Manual de buenas prácticas higiénicas para la industria de alimentos*.
- Huss, H. (2013). Aseguramiento de la calidad de productos pesqueros. *Organización de Las Naciones Unidas Para La Agricultura y La Alimentación Roma (FAO)*, 45. Retrieved from <http://www.fao.org/3/t1768s/T1768S08.htm>
- Lorenzo, F., Orihuel, E., Bertó, R., & López, C. (2011). Control de la presencia de biofilms



- en las industrias alimentarias. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 264, 43–47. Retrieved from www.betelgeux.es
- M^a Luisa Martínez Bagur. (2013). Guia de Antisepticos y desinfectantes.
- Maciel, P., Pena, M. ;, & Bruschi, J. (2017). *Facultad de Ciencias Veterinarias -UNCPBA- Desarrollo de un plan de limpieza y desinfección para una fábrica de helados*. Retrieved from <http://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/1469/MACIEL%2CPABLO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Maldonado, L., & Delgado, E. (2011). Evaluación de dos desinfectantes químicos sobre E.coli presente en canales de pollo. *@limentech, Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 10(1). Retrieved from http://revistas.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/ALIMEN/article/view/105/103
- María Fernanda Galarza Velásquez. (2010). DISEÑO DE UN SISTEMA DE BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA EN LA INDUSTRIA LÁCTEA SAN LUIS, 2010, 43.
- Martínez, A., Villoch, A., Ribot, A., & Ponce, P. (2013). Evaluación de la calidad e inocuidad de quesos frescos artesanales de tres regiones de una provincia de Cuba. *Rev. Salud Anim.*, 35(3), 210-213. Recuperado de www.who.int/whr/2007/es/.
- Meneses, M., & Landoni, M. (2011). Biofilms Bacterianos. *Analecta Veterinaria*, 31 (2), 44-49. <https://doi.org/10.4067/S0718-48162007000100011>
- México, U. A. (2017). *Coordinación de Universidad Abierta y Educación a Distancia*. Obtenido de <http://uapas1.bunam.unam.mx/matematicas/histogramas/> HISTOGRAMAS:
- Nazar C, J. (2007). Biofilms bacterianos. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*, 67(1), 61-72. <https://doi.org/10.4067/S0718-48162007000100011>
- Norma Peruana, Resolución. Ministerial. N° 461. (2007). *Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas*.
- Normalización, C. E. (2016). CEN / TC 216 - Desinfectantes y antisépticos químicos.
- Normalización, I. E. de. (2012). *NORMA GENERAL PARA QUESOS FRESCOS NO MADURADOS. REQUISITOS*. Recuperado de <https://law.resource.org/pub/ec/br/ec.nte.2604.2012.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO. (2011). *Buenas prácticas de manufactura en la elaboración de productos lácteos*. Retrieved from www.betelgeux.es



from <http://www.fao.org.gt>

- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y, & Salud, O. P. de la S. / O. M. de la. (2016). *Manual para Manipuladores de Alimentos. Gobierno de Cantabria.* Recuperado de <http://www.saludcantabria.es/index.php?page=manipuladores-de-alimentos>
- Pardo, A., & Ruiz, M. . (2010). Análisis no paramétrico: El procedimiento Pruebas no paramétricas. *SPSS 10. Guía para el Análisis de datos*, 581-646.
- Pérez Esteve, E., Barrera Puigdollers, M. C., & Castelló Gómez, M. L. (2017). *Métodos para la desinfección en la industria alimentaria.* Retrieved from <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/84175/Pérez%3Bbarrera%3Bcastelló – Métodos para la desinfección en la industria alimentaria.pdf?sequence=1>
- PÚBLICA, S. D. D. S. D. D. S. (2011). LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE EQUIPOS Y SUPERFICIES AMBIENTALES EN INSTITUCIONES PRESTADORAS DE SERVICIOS DE SALUD, ©.
- Reginaldo, B. (2017). *EN FRUTAS Y VERDURAS EVALUATION OF DISINFECTANTS FOR THE CONTROL OF MICROORGANISMS IN FRUITS AND*. 18, 9–22. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=81351597002>
- Riesco Rodríguez, S. (2012). *Seguridad, higiene y protección ambiental en hostelería.* Paraninfo.
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236-247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>
- Salas, D. (2007). Evaluación de metodologías de control higiénico de superficies alimentarias y adaptación de la PCR en tiempo real como método de control de patógenos. *Universidad Autónoma de Barcelona*.
- Salud, O. P. (2015). PAHO. Obtenido de Control Sanitario : https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838:2015-peligros-biologicos&Itemid=41432&lang=en
- Sánchez-Saldaña, L., & Anduaga-Sáenz, E. (2005). ANTISÉPTICOS Y DESINFECTANTES EDUCACIÓN MÉDICA CONTINUA Antiseptics and Disinfectants. *Antisépticos y desinfectantes Dermatología Peruana*, 15(2), 82-103. Recuperado de http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/dermatologia/v15_n2/pdf/a02.pdf



- Tamayo, L. M. (2011). *SCRIBD. Obtenido de Limpieza y Desinfección en La Industria de Alimentos:* <https://es.scribd.com/doc/67395766/Limpieza-y-Desinfección-en-La-Industria-de-Alimentos>
- Tinoco, J., Chacón, E., Delpiano, L., Jemenao, M. I., Diomedi, A., Hervé, B., ... Quintanilla, M. (2017). Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología. *Revista Chilena de Infectología*, 34(2), 156–174. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182017000200010>
- Uriarte, D. (2012). *Efecto del hipoclorito de sodio sobre la supervivencia de Listeria sp y Escherichia coli en superficies inertes contaminadas.* Retrieved from http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/2638/Uriate_Gutierrez%2CDiana_Paola.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Velez, M. V., Etcheverría, Padola, A. I., & Lía, N. (2016). Influencia del Hipoclorito de Sodio en biofilms formados por Escherichia coli. *Universidad Nacional Del Centro de La Provincia de Buenos Aires*, 5(3), 1–80. Retrieved from https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/750/VELEZ_MARIA_VICTORIA.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Yucta, C. del R. P. (2012). EVALUACIÓN DEL MODELO DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD APLICADO EN LA INDUSTRIA LÁCTEA.



8. ANEXOS

Anexo 1. Ficha Técnica ACL 40.



ACL40 Detergente Desinfectante Alcalino Clorado

DESCRIPCIÓN

ACL40 es un detergente desinfectante espumante alcalino clorado para la limpieza diaria y usos periódicos en las industrias de alimentos.

APLICACIONES

ACL40 es utilizado para limpieza y desinfección general en las industrias de alimentos, desmanche de látex de banano, limpieza de equipos, superficies, entre otros usos.

CARACTERISTICAS Y BENEFICIOS

ACL40 contiene una mezcla de álcalis, hipoclorito de sodio y tensoactivos que le permiten una rápida y efectiva remoción y limpieza de las superficies donde se aplica.

Su acción como desmanchador va en conjunto con una acción desodorizante, recomendado para limpiar bandas transportadoras que conducen alimentos: vegetales, cárnicos, pescados, mariscos y conservas.

INSTRUCCIONES DE USO

ACL40 puede aplicarse con sistemas de dosificación automática o manual. Utilice a una dilución entre 2.0 – 10.0 % v/v, a máximo 50°C, durante 10 – 30 minutos, dependiendo del tipo y grado de suciedad.

Aplicación como des manchador:

- Seleccione los equipos, bandas y artículos a desmanchar.
- Humecte la superficie a limpiar.
- Aplique ACL40, si es la primera vez utilícelo completamente puro, remoje las áreas y mantenga humectado por 15 a 20 minutos, en manchas severas o intensas realice una cepillada para ayudar a la remoción de la mancha.
- En las siguientes aplicaciones se puede trabajar con Diluciones 1:1.
- Luego enjuague con agua a presión.

Recomendación: Repita esta operación semanalmente, para mantener limpios los equipos de procesamiento de alimentos y las bandas transportadoras.

Marzo/2019



PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Aspecto: Líquido Viscoso Transparente
Color: Amarillento
Olor: A Cloro
Gravedad Específica 25°C: 1.03 – 1.13
pH Sol 1% 25°C: 11.0 – 12.0
% Cloro Disponible: 3.50 – 4.50
Visc. 25°C, 60 rpm, spindle # 62: Mínimo 250 cps

PRECAUCIONES

Producto corrosivo. No mezcle con productos ácidos. Evite contacto con los ojos, mucosa o piel. En caso de contacto enjuague con abundante agua durante 15 minutos. Mantener fuera del alcance de los niños. Antes de usar el producto lea atentamente su Hoja de Seguridad.

ALMACENAMIENTO

Mantener en el envase original, en ambiente seco. Evitar temperaturas extremas y exposición a la luz solar.
Apilamiento máximo 2 bidones.

PRESENTACIÓN

Bidón x 20 Kg.
Tanque x 220 Kg.

Diversquim S.A.
RUC No. 0990744793001
Guayaquil: Km. 16,5 Vía Daule, calle Bronce Sector N. Lote 21
Tel.: (593) 04-2162693 / 04-2162140
Quito: Química: s/n y Trba. Hugo Ortiz
Tel.: (593) 02-2678260 / 02-2676251; Fax: 02-2678687

Marzo/2019



Anexo 2. Autorización de la Empresa de lácteos “New Lac”.



PRODUCTOS LACTEOS SAN FERNANDO NEW LAC
GAVILANES PACHECO DIEGO MARTIN
RUC: 0102821519001
SAN FERNANDO – ECUADOR

San Fernando, 08 de julio de 2019

Yo, **GAVILANES PACHECO DIEGO MARTIN**, portador de la cédula de ciudadanía No. **0102821519**, en mi calidad de gerente de la organización denominada: **PRODUCTOS LACTEOS SAN FERNANDO NEW LAC**, con Registro Único de Contribuyentes (RUC): **0102821519001**, a petición verbal de la parte interesada:

AUTORIZO

A los señores **GAVILANES RODAS JUAN DIEGO** con CEDULA DE CIUDADANIA (C.I.) No. **0104878400** y **VASQUEZ PERALTA SERGIO ESTEBAN** con CEDULA DE CIUDADANIA (C.I.) No. **0105954903** estudiantes de la UNIVERSIDAD DE CUENCA a realizar el trabajo de titulación denominado “**EVALUACION DE LA EFECTIVIDAD DEL DESINFECTANTE LIQUIDO ALCALINO CLORADO (ACL 40) FRENTA A COLIFORMES TOTALES Y E.COLI EN LAS SUPERFICIES EN CONTACTO CON EL ALIMENTO EN EL AREA DE PRODUCCION DE LA EMPRESA NEW LAC**”

Atentamente,

Sr. Martin Gavilanes Pacheco
C.I. 0102821519
Telf. 0999618637

Dir.: Jesús Arriaga 7-7 y Camino a Tapra / Cel.: 0999618637 / mail: martingavilanes_20@hotmail.com
San Fernando - Ecuador



Anexo 3. "Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas".

■ Perú Lima, jueves 7 de junio de 2007	NORMAS LEGALES	346583
<p>como Jefe del Instituto de Desarrollo de Recursos Humanos, por las razones expuestas en la parte considerativa de la presente Resolución, dándole las gracias por los servicios prestados.</p>	SE RESUELVE:	<p>Artículo 1º.- Aprobar la "Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas", que consta catorce (14) folios y que forma parte integrante de la presente resolución.</p>
<p>ALAN GARCÍA PÉREZ Presidente Constitucional de la República</p>	<p>Artículo 2º.- La Oficina General de Comunicaciones publicará la mencionada Guía Técnica en el Portal del Internet del Ministerio de Salud.</p>	Regístrate, comuníquese y publique.
<p>Aprueban "Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas"</p>	<p>CARLOS VALLEJOS SOLOGUREN Ministro de Salud</p>	69199-1
<p>RESOLUCIÓN MINISTERIAL Nº 461-2007/MINSA</p>	<p>Aprueban Documento Técnico: Plan Nacional de Prevención y Control de la Transmisión Madre Niño del VIH y Sífilis</p>	<p>RESOLUCIÓN MINISTERIAL Nº 463-2007/MINSA</p>
<p>Lima, 5 de junio del 2007</p>	<p>Lima, 5 de junio del 2007</p>	<p>Visto: el Expediente N° 06-066910-001, que contiene el Memorándum N° 8358-2006-DG/DIGESA, presentado por la Dirección General de Salud Ambiental;</p>
<p>CONSIDERANDO:</p>	<p>CONSIDERANDO:</p>	
<p>Que, el Artículo 92º de la Ley N° 28842, Ley General de Salud dispone que la Autoridad de Salud de nivel nacional es la encargada del control sanitario de los alimentos y bebidas;</p>	<p>Artículo 1º.- La Oficina General de Comunicaciones publicará en el portal del Internet del Ministerio de Salud, hasta por un período de treinta (30) días naturales, el proyecto de la Guía Técnica sobre Criterios y Procedimientos para el Examen Microbiológico de Superficies en relación con Alimentos y Bebidas, para recepcionar las sugerencias o recomendaciones que pudieran contribuir a su perfeccionamiento;</p>	
<p>Que, el Artículo 2º del Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado por Decreto Supremo N° 007-98-SA dispone que todo alimento y bebida o materia prima debe responder a sus caracteres organolépticos, composición química y condiciones microbiológicas;</p>	<p>Que, mediante Resolución Ministerial N° 410-2006/MINSA del 2 de mayo de 2006, dispuso que la Oficina General de Comunicaciones publique en el portal de Internet del Ministerio de Salud, hasta por un período de treinta (30) días naturales, el proyecto de la Guía Técnica sobre Criterios y Procedimientos para el Examen Microbiológico de Superficies en relación con Alimentos y Bebidas, para recepcionar las sugerencias o recomendaciones que pudieran contribuir a su perfeccionamiento;</p>	
<p>Que, habiendo culminado dicho plazo, el grupo técnico conformado por representantes de las Direcciones de Salud, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición del Instituto Nacional de Salud, Certificaciones del Perú y Laboratorios acreditados, han evaluado y consolidado las sugerencias o recomendaciones presentadas por los recurrentes;</p>	<p>Que, el citado proyecto de Guía Técnica, propone regular un aspecto técnico normativo, estandarizando y uniformizando los procedimientos que se deben aplicar en la selección, toma de muestras y ensayos microbiológicos, estableciendo los límites microbiológicos destinados a evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes que entran en contacto con los alimentos y bebidas;</p>	
<p>Con la opinión favorable de la Dirección General de Salud Ambiental;</p>	<p>Con el visto bueno del Viceministro de Salud, la Directora General de Salud Ambiental y el Director General de la Oficina General de Asesoría Jurídica; y,</p>	
<p>De conformidad con lo previsto en el Artículo 8º literal I) de la Ley N° 27657, Ley del Ministerio de Salud;</p>		



GUÍA TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS

1. Finalidad

La presente Guía Técnica tiene por finalidad contribuir a asegurar la calidad sanitaria indispensable en la fabricación, elaboración y expendio de alimentos y bebidas destinados al consumo humano y a la implementación del Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (HACCP: Hazard Analysis and Critical Control Points).

2. Objetivos

2.1. Uniformizar los procedimientos que se deben aplicar en la selección, toma de muestras y para los análisis microbiológicos de superficies vivas e inertes.

2.2. Establecer los límites microbiológicos para evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes que entran en contacto con los alimentos y bebidas.

2.3. Proporcionar a la Autoridad Sanitaria un instrumento para evaluar la efectividad de los Programas de Higiene y Saneamiento (PHS) y de Buenas Prácticas de Higiene en la manipulación de los alimentos.

3. Ámbito de aplicación

La presente Guía Técnica es de obligatorio cumplimiento en todo el territorio nacional, para efectos de vigilancia y control sanitario por parte de la Autoridad Sanitaria, según el ámbito de su competencia. Asimismo, la presente Guía Técnica podrá ser utilizada referencialmente por personas naturales o personas jurídicas en las operaciones de control sanitario que realicen.

4. Procedimientos a estandarizar

La presente Guía Técnica estandariza los procedimientos para la selección, toma de muestras y análisis microbiológicos; y establece los límites microbiológicos para superficies que están en contacto o relación directa con los alimentos.

5. Definiciones Operativas

Análisis microbiológico: Procedimiento que se sigue para determinar la presencia, identificación, y cantidad de microorganismos patógenos e indicadores de contaminación en una muestra.

Calidad sanitaria: Es el conjunto de requisitos microbiológicos, físico-químicos y organolepticos que debe cumplir un alimento para ser considerado inocuo y apto para el consumo humano.

Límites microbiológicos: Son los valores permisibles de microorganismos presentes en una muestra, que indican la aceptabilidad higiénico sanitaria de una superficie.

Gel refrigerante: Producto acumulador de frío, de descongelamiento retardado, no tóxico, no comestible y reutilizable que se emplea para mantener la cadena de frío.

Hisopo: Instrumento que tiene un extremo recubierlo de algodón o de rayón estéril que se utiliza humedecido con solución diluyente para facilitar la recuperación bacteriana, en el muestreo de superficies.

Manipulador de alimentos: Toda persona que a través de sus manos toma contacto directo con alimentos envasados o no envasados, equipos y utensilios utilizados para su elaboración y preparación o con superficies que están en contacto con los alimentos.



Peligro: Agente biológico, químico o físico presente en un alimento o superficie que está en contacto con los alimentos y que pueden ocasionar un efecto nocivo para la salud.

Riesgo: Probabilidad de que ocurra un efecto nocivo para la salud y la gravedad de dicho efecto, como consecuencia de un peligro o peligros en los alimentos, ocasionado por el contacto con superficies vivas (manipulación) o inertes contaminadas.

superficies inertes: Son todas las partes externas y/o internas de los utensilios que están en contacto con los alimentos, por ejemplo equipos, mobiliario, vajilla, cubiertos, tabla de picar, etc.

superficies vivas: Las partes externas del cuerpo humano que entran en contacto con el equipo, utensilios y alimentos durante su preparación y consumo. Para efectos de la presente Guía se considera a las manos con o sin guantes del manipulador de alimentos.

Vigilancia sanitaria: Conjunto de actividades de observación y evaluación que realiza la Autoridad Sanitaria sobre las condiciones sanitarias de las superficies que están en contacto con los alimentos y bebidas, en protección de la salud de los consumidores.

6. Conceptos Básicos

6.1. Operaciones en campo

Las operaciones en campo son aquellas que se realizan en el establecimiento donde se procesan, elaboran, almacenan, fraccionan o expenden alimentos y bebidas, sea fábrica, almacén, servicios de alimentos, quiosco, puesto, comedor, u otro.

Comprende las siguientes operaciones consecutivas, realizadas por personal capacitado en la materia:

- a. Procedimiento para la selección de la muestra.
- b. Selección del método de muestreo.
- c. Procedimiento para la toma de muestra.

6.2. Operaciones analíticas

Las operaciones analíticas son aquellas que se realizan en un laboratorio destinado y acondicionado para el control de la calidad sanitaria e inocuidad de los alimentos y bebidas.

Comprende las siguientes operaciones consecutivas, realizadas por personal capacitado en la materia:

- a. Determinación de los ensayos microbiológicos.
- b. Procedimiento de análisis microbiológicos.
- c. Cálculo y expresión de resultados.
- d. Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos.

7. Consideraciones Específicas: Operaciones en Campo

7.1. Procedimiento para la selección de la muestra

El procedimiento para seleccionar las muestras, debe estar en función de los riesgos sanitarios relacionados a las diferentes etapas de la cadena alimentaria, sea la de fabricación, la de elaboración y/o expendio.

En fábricas de alimentos y bebidas

a) Superficies inertes

Se seleccionarán aquellas que están o tendrán contacto directo con los alimentos que no serán sometidos a un proceso térmico posterior u otro que disminuya la carga microbiana.



b) **Superficies vivas**

Se seleccionarán a los manipuladores de alimentos, con o sin guantes, que estén en contacto directo con los alimentos que no serán sometidos a un proceso térmico posterior u otro tratamiento que diminuya la carga microbiana.

En establecimientos de elaboración y expendio

a) **Superficies inertes**

Se seleccionarán aquellas superficies que están en contacto con los alimentos destinados al consumo directo, como utensilios, vajilla, superficies de corte, menaje, equipos, entre otros.

b) **Superficies vivas**

Se seleccionarán las manos de los manipuladores, con o sin guantes, que estén en contacto con los alimentos destinados al consumo directo.

7.2. Selección del método de muestreo

La selección del método de muestreo debe estar en función de las características de la superficie a muestrear.

MÉTODO DE MUESTREO	SUPERFICIES A MUESTREAR
Método del Hisopo	Se utiliza para superficies inertes regulares e irregulares, tales como tabla de picar, bandejas, mesas de trabajo, utensilios, cuchillas de equipos, cortadora de embutidos, cortadora de pan de molde, fajas transportadoras, tolvas, mezcladoras, pisos, paredes y otros.
Método de la Esponja	El método de la esponja se utiliza preferentemente para muestrear superficies de mayor área.
Método del Enjuague	Se utiliza para superficies vivas (manos) y para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, etc.

7.3. Procedimiento para la toma de muestra

7.3.1. Método del hisopo

a) **Descripción:**

Consiste en frotar con un hisopo estéril previamente humedecido en una solución diluyente, el área determinada en el muestreo.

b) **Materiales:**

- o Hisopos de algodón u otro material equivalente, de largo aproximado de 12 cm.
- o Tubo de ensayo con tapa hermética contenido 10 mL de solución diluyente estéril. Se agregará una solución diluyente con neutralizante como alternativa. (Ver Anexo 1).
- o Plantilla estéril, con un área abierta en el centro de 100 cm² (10cm x 10cm) o alternativamente, plantilla estéril, con un área abierta en el centro de 25 cm² (5 cm x 5 cm).
- o Guantes descartables de primer uso.
- o Protector de cabello.



- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador indeleble (para vidrio).
- Caja térmica.
- Refrigerantes.

c) **Procedimiento:**

1. Colocar la plantilla (10cm x 10cm) sobre la superficie a muestrear.
2. Humedecer el hisopo en la solución diluyente y presionar ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de solución.
3. Con el hisopo Inclinado en un ángulo de 30°, frotar 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior. Asegurar el hisopado en toda la superficie.
4. En el caso de utilizar la plantilla de 5cm x 5cm, repetir esta operación 3 veces más, en lugares diferentes de la misma superficie, para obtener 100 cm².
5. Colocar el hisopo en el tubo con la solución diluyente, quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador, la cual debe ser eliminada.
6. Para superficies Irregulares, en el caso de utensilios, se repetirá la operación con 3 utensilios más (total 4 como máximo), con el mismo hisopo, considerando el área que está en contacto con el alimento o con la boca.
7. Si no se toman las 4 muestras, se debe anotar en la Ficha de Toma de Muestra.

d) **Conservación y Transporte de la muestra**

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio con la finalidad de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Las temperaturas superiores a 10°C invalidan la muestra para su análisis.

7.3.2. Método de la esponja

a) **Descripción:**

Consiste en frotar con una esponja estéril, previamente humedecida en una solución diluyente, el área determinada en el muestreo.

b) **Materiales:**

- Esponja estéril de poliuretano o de celulosa, de 5cm x 5 cm.
- Plantilla estéril, con un área en el centro de 100 cm² (10 cm x 10 cm).
- Frascos con tapa rosca de 250 mL de capacidad, con 100 mL de solución diluyente estéril.
- Pinzas estériles.
- Bolsas de polietileno de primer uso.
- Guantes descartables de primer uso.
- Protector de cabello.
- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador indeleble (para vidrio).
- Caja térmica.
- Refrigerantes.

c) **Procedimiento:**

1. Retirar la esponja de su envoltura con la pinza estéril o con guantes descartables o bien usar una bolsa de primer uso, invertida a manera de guante.
2. Humedecer la esponja con la solución diluyente estéril (aproximadamente 10 mL).



3. En condiciones asépticas frotar vigorosamente el área a muestrear. En el caso de superficies regulares, frotar el área delimitada por la plantilla y en las superficies irregulares (cuchillas, equipos, utensilios, etc), frotar abarcando la mayor cantidad de superficie.
4. Colocar la esponja en el frasco con el resto de la solución diluyente o alternativamente colocar la esponja con la muestra en una bolsa de plástico de primer uso.
5. Para el caso específico de utensilios se deberá repetir la operación con 3 utensilios más (total 4 como máximo), con la misma esponja, considerando el área que está en contacto con el alimento o con la boca.
6. Las tazas, copas o vasos se muestrearan 2 a 3 cm alrededor del borde por dentro y por fuera.

d) **Conservación y Transporte de la muestra**

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio con la finalidad de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Las temperaturas superiores a 10 °C invalidan la muestra para su análisis.

7.3.3. Método del enjuague

a) **Descripción:**

Dependiendo de la muestra, el método consiste en realizar un enjuague (botellas, frascos, utensilios, similares) o inmersión (manos, objetos pequeños) en una solución diluyente.

b) **Materiales:**

- Frascos con tapa hermética de boca ancha de 250 mL de capacidad, con 100 mL de solución diluyente estéril.
- Bolsas de polietileno de primer uso.
- Pinzas estériles.
- Guantes descartables de primer uso.
- Protector de cabello.
- Mascarillas descartables.
- Plumón marcador indeleble (para vidrio).
- Caja térmica.
- Refrigerantes.

c) **Procedimiento:**

Para manos

1. Vaciar el diluyente del frasco (100 mL) en una bolsa plástica de primer uso.
2. Introducir las manos a muestrear hasta la altura de la muñeca.
3. Solicitar al manipulador que realice un frotado de los dedos y particularmente alrededor de las uñas y la palma de la mano, adicionalmente el muestreador deberá realizar la misma operación a través de las paredes de la bolsa, durante un (01) minuto aproximadamente.
4. Luego de retirar las manos se regresa el líquido al frasco o se anuda la bolsa y ésta se coloca en otra bolsa para que esté segura; en este caso, la bolsa que se utilice debe ser estéril.



Para recipientes (frascos, jarras, otros)

1. Vaciar en el recipiente a muestrear una parte de la solución estéril (frasco con 100 mL) y agitar vigorosamente.
2. Regresar la solución a su frasco original.
3. Centrar herméticamente el frasco para su traslado.

Para objetos pequeños (piezas de equipos, otros)

1. Se introduce individualmente cada objeto en el frasco o bolsa con la solución estéril y agitar vigorosamente.
2. Luego con una pinza estéril, retirar el objeto pequeño del frasco o bolsa.
3. Si se muestrea más de un objeto pequeño de igual naturaleza, se debe considerar esto en el cálculo de resultados a fin de evitar reportes inexactos.

d) Conservación y Transporte de la muestra

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas.

Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio con la finalidad de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Las temperaturas superiores a 10°C invalidan la muestra para su análisis.

8. Consideraciones Específicas: Operaciones Analíticas

8.1. Selección de ensayos

Los ensayos a realizar serán según el tipo de superficie que ha sido muestreada.

ENSAYOS	SUPERFICIES VIVAS	SUPERFICIES INERTES
Indicadores de Higiene	Coliformes totales	Coliformes totales
	Staphylococcus aureus (*)	—

(*) En el caso de superficies el S. aureus es considerado un indicador de higiene ya que la toxina es generada en el alimento.

Se considerará la búsqueda de patógenos tales como: *Salmonella* sp., *Listeria* sp., *Vibrio cholerae*, en caso signifiquen un peligro para el proceso. Para la detección de patógenos se deberá tomar una muestra diferente (de la misma superficie) a la muestreada para indicadores de higiene.

1.2. Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método del hisopo

Procedimiento de análisis microbiológicos

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos internacionales como la Organización Internacional para la Estandarización (ISO: International Organization for Standardization), Métodos Oficiales de Análisis de la Asociación Internacional de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists International), Administración de Alimentos y Drogas/Manual Analítico Bacteriológico (FDA/BAM: Food and Drug Administration/Bacteriological



Analytical Manual), Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (ICMSF: International Commission on Microbiological Specifications for Foods), Asociación Americana para la Salud Pública / Compendio de Métodos para el Análisis Microbiológico de Alimentos (APHA/CMMEF: American Public Health Association / Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods), entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa.

Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (10 mL) y se dividirá entre el área de la superficie hisopada o muestreada (100 cm²).

Para superficies Irregulares: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de la solución diluyente usada.

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

- Para superficies regulares en: ufc / cm²:
- Para superficies Irregulares en: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora, cuchara, etc.). Se deberá expresar la cantidad de superficies muestreadas. (ej. ufc/ 4 cucharas).

c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

SUPERFICIES INERTES				
MÉTODO HISOPO	Superficie Regular		Superficie Irregular	
ENSAYO	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Detección del Método	Límite Permisible (*)
Coliformes totales	< 0,1 ufc / cm ²	< 1 ufc / cm ²	< 10 ufc / superficie muestreada	< 10 ufc / superficie muestreada
Patógeno	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (**)	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(**) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm².

8.3. Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método de la esponja

Procedimiento de análisis microbiológico

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos Internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA/CMMEF, entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa.



Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 mL) y se dividirá entre el área de la superficie muestreada (100 cm²).

Para superficies Irregulares: el número de colonias obtenido (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 mL) y se divide entre las 4 superficies muestreadas (ej. cuchillas de licuadoras, utensilios como cucharas, vasos, etc.).

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

- Para superficies regulares: ufc/ cm²
- Para superficies Irregulares: ufc/ superficie muestreada (ej. cuchilla de licuadora, cubierto, etc).

c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

SUPERFICIES INERTES				
MÉTODO ESPONJA	Superficie Regular		Superficie Irregular	
ENSAYO	Limite de Detección del Método	Limite Permisible (*)	Limite de Detección del Método	Limite Permisible (*)
Coliformes totales	< 1 ufc / cm ²	< 1 ufc / cm ²	< 25 ufc / superficie muestreada (**)	< 25 ufc / superficie muestreada (**)
Patógeno	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (***)	Ausencia / superficie muestreada en cm ² (***)	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(**) Para 4 utensilios.

(***) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm².

8.4. Procedimiento para el control microbiológico con aplicación del método del enjuague

Procedimiento de análisis microbiológico

Sea por métodos rápidos o convencionales, los ensayos microbiológicos se realizarán utilizando métodos normalizados por organismos Internacionales como la ISO, AOAC, FDA/BAM, ICMSF, APHA/CMMEF, entre otros; utilizando la técnica de recuento en placa.



Cálculo y expresión de resultados

a) Cálculo

Para superficies vivas: el número de colonias obtenidas (ufc) se multiplicará por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 mL).

Para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, entre otros, el número de colonias obtenido (ufc) se multiplica por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizado en el muestreo (100 mL) y se divide entre las 4 superficies muestreadas (ej. envases, bolsas de plástico).

b) Expresión de resultados

Los resultados se expresarán:

- Para superficies vivas: ufc/ manos.
- Para superficies internas: ufc/ superficie muestreada (ej. envases, bolsas de plástico, etc).

c) Interpretación de resultados de acuerdo a los límites microbiológicos

SUPERFICIES				
MÉTODO ENJUAGUE	Vivas		Pequeñas o Internas	
ENSAYO	Límite de Deteccción del Método	Límite Permisible (*)	Límite de Deteción del Método	Límite Permisible (*)
Coliformes totales	< 100 ufc / manos	< 100 ufc / manos	< 25 ufc / superficie muestreada (**)	< 25 ufc / superficie muestreada (**)
Staphylococcus aureus	< 100 ufc / manos	< 100 ufc / manos	—	—
Patógeno	Ausencia / manos	Ausencia / manos	Ausencia / superficie muestreada	Ausencia / superficie muestreada

(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.

(**) Para 4 utensilios.



Anexo 4. Certificado de validación del desinfectante líquido alcalino clorado ACL 40.

CERTIFICADO DE VALIDACION DE:

NOMBRE DEL PRODUCTO: ACL40

EMPRESA: LACTEOS SAN FERNANDO

DIRECCION: SAN FERNANDO - AZUAY

TIPO DE PRODUCCION: DERIVADOS LACTEOS

APLICACIÓN PRINCIPAL: LIMPIEZA DE SUPERFICIES INERTES REGULARES E IRREGULARES DE LA PLANTA.

AREA	REGISTRO – POES	OBSEBACION
PISOS EXTERIORES E INTERIORES	LSF-003RMP LSF-004LPI LSF-007LC LSF-008 OL LSF-009LPI LSF-010-LG	DOSIFICACION 5% DURANTE 30 MINUTOS
PAREDES DE EMPLAZAMIENTO INTERNAS Y EXTERNAS	LSF-003RMP LSF-004LPI LSF-007LC LSF-008 OL LSF-009LPI	DOSIFICACION 5% DURANTE 30 MINUTOS
VENTANAS	LSF-003RMP LSF-004LPI	DOSIFICACION 5% DURANTE 30 MINUTOS
BAÑOS	LSF-003RMP LSF-004LPI	DOSIFICACION 5% DURANTE 30 MINUTOS
MESONES LABORATORIO	LSF-002LL	DOSIFICACION 5% DURANTE 30 MINUTOS
CORTINAS	LSF-005 LCF	DOSIFICACION 5% DURANTE 30 MINUTOS
CAMARA DE FRIO	LSF-005 LCF	DOSIFICACION 5% DURANTE 30 MINUTOS

AREA RECOMENDADA: PISOS, PAREDES Y DEMAS SUPERFICIES.

COMPONENTE PRINCIPAL: HIPOCLORITO DE SODIO

DOSIFICACION: 5%



TIEMPO DE ACCION: 30 MINUTOS - SEGÚN RESULTADOS MICROBIOLOGICOS

FRECUENCIA: TODOS LOS DIAS

TIPO DE ACCION: BACTERICIDA

TEMPERATURA DE ACCION: NO MAYOR A 50 GRADOS

PRECAUSION: CORROSIVO (RESPETAR DOSIFICACION, EN CONTACTO CON MATERIAL INOXIDABLE EN CONCENTRACIONES ALTAS PUEDE PRODUCIR CORROSION – OXIDO).

PRESENTACION: BIDON DE 20 KILOS.

FORMA DE ALMACENAMIENTO: EVITAR TEMPERATURAS EXTREMAS, EXPOSICION A LA LUZ SOLAR, MANTENER EN UN AMBIENTE SECO DENTRO DE SU ENVASE ORIGINAL.

TIEMPO RECOMENDADO DE USO: 6 MESES PARA EVITAR RESISTENCIA, SE REALIZARA UN NUEVO ANALISIS MICROBIANO DE LAS SUPERFICIES A SER TRATADAS.

VALIDADO POR: ING. CARLOS RODRIGUEZ



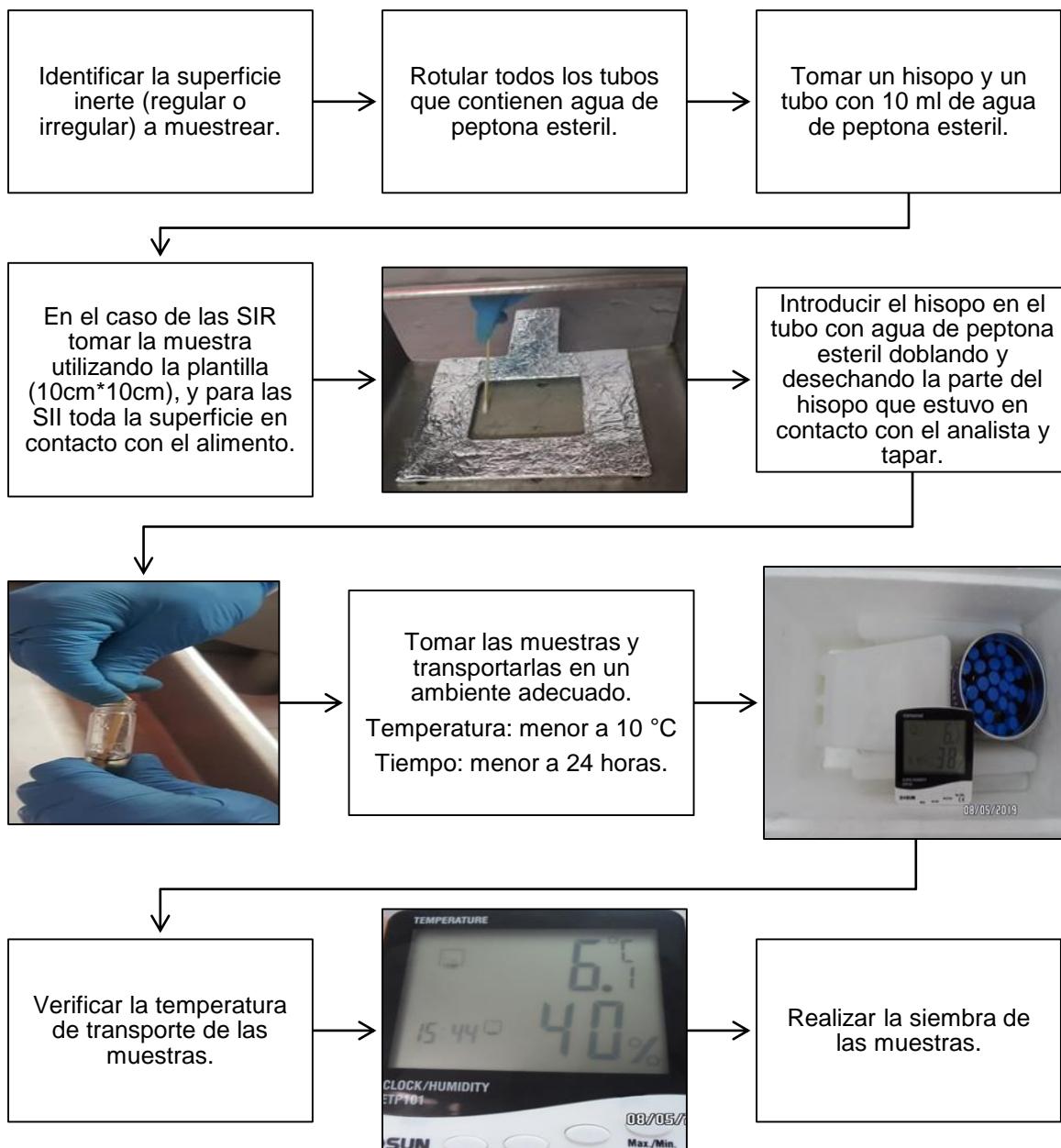
ING. CARLOS RODRIGUEZ



Anexo 5. Codificación utilizada para la toma y análisis de las muestras.

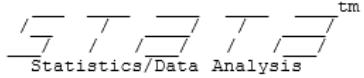
SUPERFICIES INERTES			
Número de superficies	Regulares	Irregulares	Codificación
1	Barteza 1		B1
2	Barteza 2		B2
3	Barteza 3		B3
4	Tela de recubrimiento 1		T1
5	Tela de recubrimiento 2		T2
6	Tela de recubrimiento 3		T3
7	Tapa metálica 1		TM1
8	Tapa metálica 2		TM2
9	Tapa metálica 3		TM3
10	Gaveta plástica 1		GP1
11	Gaveta plástica 2		GP2
12	Gaveta plástica 3		GP3
13	Pala de agitación 1		P1
14	Pala de agitación 2		P2
15	Pala de agitación 3		P3
16	Cantarilla 1		C1
17	Cantarilla 2		C2
18	Cantarilla 3		C3
19	Molde grande 1		MG1
20	Molde grande 2		MG2
21	Molde grande 3		MG3
22	Tanque de salmuera 1		S1
23	Tanque de salmuera 2		S2
24	Tanque de salmuera 3		S3
25		Cernidores	Ce
26		Moldes pequeños 1	M1
27		Moldes pequeños 2	M2
28		Moldes pequeños 3	M3
29		Liras	Li
30		Cuchillos	Cu

Anexo 6. Flujograma del procedimiento de toma y transporte de las muestras.





Anexo 7. Análisis estadístico para coliformes totales y E. coli mediante el software estadístico Stata 10.0, utilizando la prueba Wilcoxon-Mann-Whitney.

Tuesday June 4 10:04:24 2019 Page 1																					
																					
<hr/>																					
log: C:\Users\Johana\Dropbox\Johana\stata desk 300312\varia datasets\logfile1.smcl log type: smcl opened on: 4 Jun 2019, 10:03:48																					
1 . 2 . sum col																					
<table border="1"><thead><tr><th>Variable</th><th>Obs</th><th>Mean</th><th>Std. Dev.</th><th>Min</th><th>Max</th></tr></thead><tbody><tr><td>col</td><td>236</td><td>83.68383</td><td>310.9174</td><td>0</td><td>2400</td></tr></tbody></table>						Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max	col	236	83.68383	310.9174	0	2400				
Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max																
col	236	83.68383	310.9174	0	2400																
3 . sum ech																					
<table border="1"><thead><tr><th>Variable</th><th>Obs</th><th>Mean</th><th>Std. Dev.</th><th>Min</th><th>Max</th></tr></thead><tbody><tr><td>ech</td><td>240</td><td>.2697917</td><td>1.284461</td><td>0</td><td>10</td></tr></tbody></table>						Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max	ech	240	.2697917	1.284461	0	10				
Variable	Obs	Mean	Std. Dev.	Min	Max																
ech	240	.2697917	1.284461	0	10																
4 . 5 . *Wilcoxon-Mann-Whitney test*(no paramétrico) 6 . 7 . ranksum col, by(etapa)																					
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test																					
<table border="1"><thead><tr><th>etapa</th><th>obs</th><th>rank sum</th><th>expected</th></tr></thead><tbody><tr><td>antes</td><td>116</td><td>19439.5</td><td>13746</td></tr><tr><td>despues</td><td>120</td><td>8526.5</td><td>14220</td></tr><tr><td>combined</td><td>236</td><td>27966</td><td>27966</td></tr></tbody></table>						etapa	obs	rank sum	expected	antes	116	19439.5	13746	despues	120	8526.5	14220	combined	236	27966	27966
etapa	obs	rank sum	expected																		
antes	116	19439.5	13746																		
despues	120	8526.5	14220																		
combined	236	27966	27966																		
unadjusted variance 274920.00 adjustment for ties -11969.79																					
adjusted variance 262950.21																					
Ho: col(etapa==antes) = col(etapa==despues) z = 11.103 Prob > z = 0.0000																					
8 . ranksum ech, by(etapa)																					
Two-sample Wilcoxon rank-sum (Mann-Whitney) test																					
<table border="1"><thead><tr><th>etapa</th><th>obs</th><th>rank sum</th><th>expected</th></tr></thead><tbody><tr><td>antes</td><td>120</td><td>16140</td><td>14460</td></tr><tr><td>despues</td><td>120</td><td>12780</td><td>14460</td></tr><tr><td>combined</td><td>240</td><td>28920</td><td>28920</td></tr></tbody></table>						etapa	obs	rank sum	expected	antes	120	16140	14460	despues	120	12780	14460	combined	240	28920	28920
etapa	obs	rank sum	expected																		
antes	120	16140	14460																		
despues	120	12780	14460																		
combined	240	28920	28920																		
unadjusted variance 289200.00 adjustment for ties -199347.74																					
adjusted variance 89852.26																					
Ho: ech(etapa==antes) = ech(etapa==despues) z = 5.605 Prob > z = 0.0000																					



Tuesday June 4 10:04:24 2019 Page 2

```
9 .
10 . ****
11 . log close
      log:  C:\Users\Johana\Dropbox\Johana\stata desk 300312\varia datasets\logfile1.smcl
      log type:  smcl
      closed on:  4 Jun 2019, 10:03:48
```