

Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la equivalencia entre la desinfección de herramientas en mataderos y salas de despiece con agua caliente, a una temperatura no inferior a 82 °C, y varios sistemas de desinfección alternativos

Número de referencia: AESAN-2021-014

Informe aprobado por el Comité Científico en su sesión plenaria de 24 de noviembre de 2021

Grupo de trabajo

Carlos Alonso Calleja (Coordinador), Pablo Fernández Escámez, Carlos Manuel Franco Abuín, Ángel Gil Izquierdo, Elena González Fandos*, David Rodríguez Lázaro* y Antonio Valero Díaz

Comité Científico

Carlos Alonso Calleja Universidad de León	Carlos M. Franco Abuín Universidade de Santiago de Compostela	Sonia Marín Sillué Universitat de Lleida	Magdalena Rafecas Martínez Universitat de Barcelona
Houda Berrada Ramdani Universitat de València	Ángel Gil Izquierdo Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Francisco J. Morales Navas Consejo Superior de Investigaciones Científicas	María del Carmen Recio Iglesias Universitat de València
Irene Bretón Lesmes Hospital Gregorio Marañón de Madrid	María José González Muñoz Universidad de Alcalá de Henares	Victoria Moreno Arribas Consejo Superior de Investigaciones Científicas	Ana María Rivas Velasco Universidad de Granada
Araceli Díaz Perales Universidad Politécnica de Madrid	Isabel Hernando Hernando Universitat Politècnica de València	Silvia Pichardo Sánchez Universidad de Sevilla	Gloria Sánchez Moragas Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Pablo Fernández Escámez Universidad Politécnica de Cartagena	Esther López García Universidad Autónoma de Madrid	María del Puy Portillo Baquedano Universidad del País Vasco	Antonio Valero Díaz Universidad de Córdoba
Secretario técnico Vicente Calderón Pascual	*Colaboradores externos: Elena González Fandos (Universidad de La Rioja), David Rodríguez Lázaro (Universidad de Burgos)		

Resumen

Las diferentes herramientas y utensilios utilizados en el matadero y salas de despiece pueden permitir la contaminación cruzada en caso de ser utilizados unos procedimientos inadecuados de limpieza y desinfección. En este sentido, el Reglamento (CE) N° 853/2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, establece que los mataderos y salas de despiece, tanto de ungulados como de aves de corral o lagomorfos, dispondrán de instalaciones para desinfectar las herramientas con agua caliente, a una temperatura no inferior a 82 °C, o de un sistema alternativo de efectos equivalentes.

El Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) ha valorado varios estudios realizados para establecer si la desinfección con cuatro sistemas alternativos puede considerarse equivalente a aquella realizada con agua a temperatura no inferior a 82 °C.

Tras la revisión de los estudios, el Comité Científico de la AESAN concluye que los mismos suponen un esfuerzo apreciable para demostrar la equivalencia. En ellos se observa que los compuestos utilizados dan lugar a reducciones de los microorganismos estudiados que, en las condiciones realizadas, parecen similares a las obtenidas con el método oficial. Sin embargo, dichos estudios presentan limitaciones metodológicas (número de repeticiones, plan de muestreo, microorganismos estudiados y metodología analítica) que no permiten establecer dicha equivalencia.

En base a esto, el Comité señala una serie de recomendaciones para la realización de los estudios: empleo de hisopos, en lugar de placas de contacto; incluir el análisis de microorganismos patógenos de origen alimentario de interés en mataderos; incluir información detallada de los productos desinfectantes utilizados así como la metodología analítica; armonizar los procedimientos de toma de muestras y análisis; garantizar la representatividad de las muestras tomadas (se sugiere tomar 5 muestras por matadero y por día -tomadas de al menos 4 localizaciones distintas-, utilizando en el estudio 4 mataderos diferentes, durante 5 días no consecutivos uniformemente repartidos en un periodo de 3 meses; es decir, 100 muestras en total); establecer que todas las muestras analizadas deberán ser aceptables considerando los criterios establecidos para aerobios mesófilos (0-10 ufc/cm²), enterobacterias (0-1 ufc/cm²), así como ausencia/cm² para los patógenos *Listeria monocytogenes* y *Salmonella*.

Asimismo, se recomienda la elaboración de una Guía sectorial que defina, siguiendo las recomendaciones expuestas en este informe, el protocolo detallado a seguir para demostrar la equivalencia entre la desinfección de herramientas en mataderos y salas de despiece con agua caliente, a una temperatura no inferior a 82 °C, y la desinfección con métodos alternativos.

Palabras clave

Desinfección, herramientas, mataderos, salas de despiece.

Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) on the equivalence between the disinfection of tools in slaughterhouses and cutting rooms with hot water supplied at a temperature not less than 82 °C, and various alternative systems of disinfection

Abstract

The different tools and utensils used in slaughterhouses and cutting rooms may lead to cross-contamination if unsuitable cleaning and disinfecting procedures are used. In this regard, Regulation (EC) No. 853/2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin establishes that slaughterhouses and cutting rooms for ungulates as well as poultry and lagomorphs must have facilities for disinfecting

tools with hot water supplied at not less than 82 °C, or an alternative system having an equivalent effect.

The Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) has assessed several studies carried out in order to establish whether disinfection with four alternative systems may be considered equivalent to that conducted with water supplied at a temperature not less than 82 °C.

After reviewing the studies, the AESAN Scientific Committee concludes that a notable effort has been made to demonstrate the equivalence of these systems. It is observed in these studies that the use of these compounds leads to reductions in the microorganisms studied which, under the testing conditions, appear to be similar to those obtained with the official method. However, these studies have methodological limitations (number of repetitions, sampling plan, the microorganisms studied and method of analysis) which prevent establishing this equivalence.

Accordingly, the Committee makes a series of recommendations for conducting these studies: using swabs instead of contact slides; including the analysis of foodborne pathogenic microorganisms of interest in slaughterhouses; including detailed information on the disinfecting products used as well as the method of analysis; harmonising sampling and analysis procedures; guaranteeing the representativeness of the samples taken (it is suggested to take 5 samples per slaughterhouse per day-taken from at least 4 different locations-, using 4 different slaughterhouses in the study, during 5 non-consecutive days, uniformly distributed over a period of 3 months; that is to say, a total of 100 samples); ensuring that all samples analysed are acceptable based on the established criteria for mesophilic aerobes (0-10 cfu/cm²), enterobacteria (0-1 cfu/cm²), as well as the absence/cm² for the pathogens *Listeria monocytogenes* and *Salmonella*.

Likewise, it is also recommended to draw up a sector-based Guide that, based on the recommendations made in this report, provides a detailed description of the protocol to be followed in order to demonstrate equivalence between the disinfection of tools in slaughterhouses and cutting rooms with hot water supplied at a temperature not less than 82 °C and disinfection with alternative methods.

Key words

Disinfection, tools, slaughterhouses, cutting rooms.

Cita sugerida

Comité Científico AESAN. (Grupo de Trabajo) Alonso, C., Fernández, P., Franco, C.M., Gil, Á., González-Fandos, E., Rodríguez, D. y Valero, A. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la equivalencia entre la desinfección de herramientas en mataderos y salas de despiece con agua caliente, a una temperatura no inferior a 82 °C, y varios sistemas de desinfección alternativos. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 2022, 35, pp: 37-51.

1. Introducción

1.1 Antecedentes

El Reglamento (CE) N° 853/2004 (UE, 2004) por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal, establece en su anexo III que los mataderos y salas de despiece, tanto de ungulados como de aves de corral o lagomorfos, “dispondrán de instalaciones para desinfectar las herramientas con agua caliente, a una temperatura no inferior a 82 °C, o de un sistema alternativo de efectos equivalentes”.

En diversas ocasiones, el sector cárnico ha planteado la posibilidad de utilizar sistemas alternativos para la desinfección de estas herramientas. La justificación del interés del uso de estos sistemas alternativos se basa en la alegación de que supondrían un ahorro de agua y de energía, incrementando significativamente la competitividad y sostenibilidad de las industrias cárnicas.

Por ello, se ha solicitado al Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) un informe en el que se establezca si la desinfección con cuatro sistemas alternativos, en las condiciones específicas de empleo contempladas en los estudios disponibles, puede considerarse equivalente a aquella realizada con agua a temperatura no inferior a 82 °C.

En este sentido, la AESAN dispone de información sobre varios estudios realizados por empresas del sector para la utilización de varias sustancias como métodos de desinfección de herramientas alternativos en mataderos o salas de despiece.

1.2 Contaminación microbiológica de las herramientas utilizadas en los mataderos y salas de despiece

La carne puede vehicular algunos agentes de infecciones e intoxicaciones alimentarias que se encuentran en las explotaciones animales y, por tanto, en los animales vivos que llegan a los mataderos (Moreno, 2006). Entre dichos agentes infecciosos destacan *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni/coli*, *Escherichia coli* enterohemorrágico, *Yersinia enterocolitica* y *Listeria monocytogenes*. La carne es también vehículo de cepas de *Staphylococcus aureus* de procedencia animal (Moreno, 2006). En la Tabla 1 se resumen los principales peligros asociados al sacrificio y carnización en diversos mamíferos animales de abasto y la gravedad de los riesgos potenciales (Sheridan, 2004).

Tabla 1. Peligros asociados al sacrificio del vacuno, cerdos y ovinos, y gravedad de los riesgos potenciales (según Sheridan (2004), adaptada por Moreno (2006))

Peligro	Origen	Riesgo de presentación	Gravedad
<i>Salmonella enterica</i>	Vacuno: piel, intestino, amígdalas, pezuñas Cerdo: intestino, equipo de pelado y terminado Óvidos (ovinos): vellón, intestino	Alto	Moderada o grave
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Vacuno: piel, intestino, amígdalas, pezuñas	Alto	Moderada o grave
<i>Campylobacter</i> spp.	Cerdo: intestino, equipo de pelado y terminado	Alto	Moderada o grave

Tabla 1. Peligros asociados al sacrificio del vacuno, cerdos y ovinos, y gravedad de los riesgos potenciales (según Sheridan (2004), adaptada por Moreno (2006))

Peligro	Origen	Riesgo de presentación	Gravedad
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cerdo: intestino, amígdalas	Alto	Moderada
<i>Listeria monocytogenes</i>	Vacuno: piel Cerdo: piel, equipo de pelado y terminado Óvidos (ovinos): vellón Todas las especies: instalaciones y equipo de los mataderos	Alto	Moderada o grave
Priones	Vacuno: encéfalo, amígdalas, ojos, Sistema Nervioso Central	Alto	Grave
Peligros químicos*	Instalaciones y equipos	Bajo	Leve
Peligros físicos	Maquinaria/equipos utilizados Proceso de carnización	Bajo	Leve

*No se refiere a los residuos de sustancias químicas generados a nivel de la producción animal, sino a los que podrían producirse en el propio matadero, por ejemplo, aceites lubricantes, cloro en el agua de lavado de las canales, etc.

Las diferentes herramientas y utensilios utilizados en el matadero y salas de despiece pueden permitir la contaminación cruzada en caso de unos procedimientos inadecuados de limpieza y desinfección (Sanmarco et al., 1997).

La contaminación de la canal en los mataderos puede proceder de muy diferentes fuentes, no excluyendo a los propios matarifes. Estudios como los de Sanmarco et al. (1997) remarcan la posible presencia de *Salmonella*, y los trabajos de O'Brien et al. (2005) y Tamplin et al. (2001) describen el aislamiento de *E. coli* en canales de matadero.

Las herramientas, utensilios y equipos utilizados en los mataderos de animales de abasto juegan un papel muy importante en la potencial contaminación de la canal y de los despieces obtenidos a partir de ella (Koutsoumanis y Sofos, 2004).

1.3 Prácticas higiénicas para la desinfección de las herramientas utilizadas en los mataderos y salas de despiece, y su reglamentación

Hay diferentes estudios realizados en orden a demostrar la reducción en la contaminación tras aplicar unas adecuadas prácticas higiénicas en los mataderos (Rahkio y Korkeala, 1996) (McEvoy et al., 2000) (Abdalla et al., 2010).

En la carne y los productos cárnicos derivados se ha estudiado el efecto de la microbiota natural original presente en los animales de abasto sobre los procesos de alteración y los microorganismos que los provocan, los patógenos existentes y las medidas de control a realizar (ICMSF, 1998).

La desinfección de los cuchillos en esterilizadores con agua a 82 °C es una práctica higiénica de

uso común y obligatoria en mataderos y salas de despiece, que figura en muchas normativas de la Unión Europea y españolas desde hace décadas.

En la Unión Europea, diversas Directivas y Reglamentos han incluido la necesidad de la esterilización con agua a 82 °C: Directivas 64/433/CEE (UE, 1964), 92/116/CEE (UE, 1992) y 95/68/CE (UE, 1995), y el Reglamento (CE) N° 853/2004 (UE, 2004) en vigor.

En diversos documentos y guías de prácticas higiénicas elaboradas por entidades internacionales se menciona dicha necesidad. El *Codex Alimentarius* menciona/indica unas directrices y además enumera las prácticas higiénicas precisas en el sector cárnico, pero en este caso no define explícitamente una temperatura, método concreto o una frecuencia específica.

El artículo 164 del CAC/RCP 58/2005 (Codex Alimentarius, 2005) señala que “son necesarios programas especiales de limpieza para el equipo que se usa en la matanza y el faenado de las canales, como cuchillos, sierras, cortadoras, máquinas de eviscerar y boquillas de riego. Dicho equipo deberá limpiarse y desinfectarse por inmersión en agua caliente, u otros métodos alternativos, con la debida frecuencia durante los períodos de trabajo y/o entre estos”.

Sin embargo, el “Código de buenas prácticas para la industria de la carne” de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2007), en su Sección 9 (Higiene, descuerado (desollado) y manejo de la canal) indica que en el equipo básico requerido para sacrificio y desollado se precisa de esterilizadores a 82 °C y la utilización de dos cuchillos por cada operario (así, mientras uno se usa, el otro se esteriliza).

Para una correcta desinfección de los cuchillos, y como una buena práctica higiénica, es necesario eliminar primero los residuos orgánicos de la superficie del cuchillo antes de introducirlos en el esterilizador. La inmersión de cuchillos muy contaminados en agua caliente da como resultado la coagulación de proteínas en las superficies de los mismos, haciendo que esas superficies sean inaccesibles al calor o a la desinfección química. Además, la inmersión repetida de cuchillos usados en el mismo recipiente de agua caliente puede conducir a la acumulación de grasa y otros materiales orgánicos en la superficie del agua pudiéndose quizás volver a contaminar la superficie del cuchillo desinfectada (CE, 2001).

2. Descripción de los sistemas propuestos como alternativas para la desinfección

Se han propuesto varios sistemas para ser utilizados como alternativas a la utilización de agua caliente, a una temperatura no inferior a 82 °C, para la desinfección de herramientas en mataderos y salas de despiece.

En concreto, estos sistemas son:

- Sistema A, basado en la utilización de ácido peracético diluido en agua de red osmotizada a temperatura ambiente.
- Sistema B, basado en la utilización de un compuesto a base de peroxiácidos (ácido peracético y ácido peroctanoico).
- Sistema C, basado en la utilización de agua peroxidada producida por electrólisis.
- Sistema D, basado en la utilización de una mezcla de un detergente alcalino y un desinfectante neutro no oxidante.

A continuación, se describen cada uno de estos sistemas, así como los estudios aportados para demostrar la equivalencia de los mismos con respecto al uso de agua caliente a una temperatura no inferior a 82 °C.

2.1 Sistema A, basado en la utilización de ácido peracético diluido en agua de red osmotizada a temperatura ambiente

Se trata de una solución oxidante basada en ácido peracético. El ácido peracético actúa sobre la envoltura externa de las bacterias, endosporas bacterianas, levaduras y virus a bajas concentraciones (0,1-0,2 %) (Block, 2001). Se considera inestable, particularmente diluido, ya que las diluciones se hidrolizan con el tiempo y pierden actividad (Block, 2001). Se ha indicado que sus productos de degradación (ácido acético, oxígeno y agua) no dejan residuos ni son nocivos, minimizando así el riesgo para el medio ambiente y la salud humana (Hernández, 2006). Puede ser empleado en un amplio espectro de temperaturas (0 a 40 °C), incluso en agua dura y es efectivo en un rango de pH comprendido entre 3,0 y 7,5 (Kunigk y Almeida, 2001).

Este sistema utiliza como material de partida un producto comercial que contiene ácido peracético, el cual se diluye a temperatura ambiente en agua osmotizada (agua calidad destilada obtenida por ósmosis inversa) a una concentración determinada en los esterilizadores.

El sistema de control y dosificación del ácido peracético previsto está compuesto de un depósito intermedio con una capacidad superior a la suma total de litros necesarios para rellenar todos los esterilizadores, con bombas de recirculación y con disposición de un equipo de control y dosificación de producto para garantizar la concentración necesaria de ácido peracético.

2.1.1 Estudios aportados con el sistema A

La primera parte del estudio consistió en comprobar la estabilidad del producto químico diluido en agua a temperatura ambiente osmotizada en el interior del esterilizador durante la jornada de trabajo a una concentración determinada, con la cual se obtendría una concentración mínima de producto en el interior del esterilizador de 250 ppm (Stelter, 2009). Para ello, se realizó una prueba preliminar para evaluar la estabilidad del ácido peracético diluido en el interior de los esterilizadores durante un periodo de 2 horas de funcionamiento de la línea de producción de un matadero. La concentración de ácido peracético se mantuvo estable.

Según el estudio de Baca (2012), el ácido peracético es un desinfectante eficaz a 100 ppm sobre *L. monocytogenes* y *E. coli*.

Para determinar la validez del ácido peracético en la desinfección de los cuchillos, se realizaron una serie de pruebas con las que se pretendía evaluar diferentes aspectos que pueden incidir en la eficacia de la esterilización.

La toma de muestras para el control microbiológico de las superficies de los cuchillos se realizó mediante placas de contacto (una de las hojas del cuchillo con placas con agar PCA para el recuento de aerobios mesófilos -microorganismos aerobios mesófilos viables- y en la otra hoja placas con agar VRBGA para recuento de enterobacterias). Los resultados obtenidos se consideraron aceptables o inaceptables según los valores considerados y fijados por la Decisión 2001/471/CEE (UE, 2001).

Se realizó, previamente, una prueba con el sistema de partida para la desinfección de herramientas con agua caliente a una temperatura no inferior a 82 °C. Los resultados obtenidos se compararon con el sistema alternativo en distintas condiciones.

2.1.2 Esterilización de los cuchillos con agua caliente a 82 °C

Se realizó un análisis de la carga microbiana de las hojas de los cuchillos del matadero durante toda la jornada mediante la inmersión de estos en los esterilizadores de faenado de morros y de cuello con agua caliente a 82 °C. Los recuentos fueron inferiores a 0,84 ufc/cm² en aerobios mesófilos e inferiores a 0,04 ufc/cm² en enterobacterias.

2.1.3 Esterilización de los cuchillos con el sistema alternativo A

A continuación, se procedió a estudiar la evolución de la carga microbiana a lo largo de todo el día de trabajo utilizando esterilizadores de las zonas indicadas (morros y cuello). En ambos casos no se realizó el aclarado del cuchillo antes de iniciar el faenado de la canal.

Los resultados mostraron una contaminación máxima de 1,2 ufc/cm² de aerobios mesófilos en el esterilizador de morros, de 0,32 ufc/cm² en el de cuello y una presencia de enterobacterias inferior a 0,04 ufc/cm² en todos los casos.

Se realizó una prueba adicional con un aclarado de los cuchillos con agua potable antes de muestrear para comprobar que el posible compuesto residual que hubiera quedado en las hojas de los cuchillos utilizados en las primeras pruebas no influye en los resultados. La concentración de ácido peracético se determinó con tiras reactivas especiales, obteniendo en todos los casos ausencia total de producto químico. A continuación, se verificó que la acción del ácido peracético era igual de eficaz aclarando o no estos antes de su muestreo.

Se utilizaron los mismos esterilizadores que en la prueba anterior. Se realizaron muestreos en dos turnos y, en todos los casos, los recuentos fueron iguales o inferiores a la prueba realizada sin aclarado.

2.2 Sistema B, basado en la utilización de un compuesto a base de peroxiácidos (ácido peracético y ácido peroctanoico)

El producto utilizado en el estudio es un desinfectante a base de peroxiácidos (ácido peracético y ácido peroctanoico). La desinfección se realiza diluyendo este producto en agua a temperatura ambiente y sin aclarar tras su aplicación.

Las soluciones con este producto se producen mediante un equipo de dosificación especial. La verificación de la concentración se realiza mediante una titulación iodométrica (redox) convencional.

El desinfectante a base de peroxiácidos se utiliza en descontaminación de canales, especialmente de aves. La descontaminación con este o con otros productos es una opción que utilizan los mataderos de algunos países (por ejemplo, Estados Unidos y Canadá) relativa a la consecución de una mayor calidad higiénico-sanitaria y un retraso en la alteración de los productos. En otros países como en los de la Unión Europea actualmente está prohibida la descontaminación de canales, salvo en el caso de vacuno usando determinadas concentraciones de ácido láctico (UE, 2013).

2.2.1 Estudios aportados con el sistema B

Se trata de un estudio presentado en una reunión científica (Heres y Verkaar, 2011). El estudio fue realizado con el objetivo de comprobar la eficacia de la esterilización de los cuchillos utilizados en el sacrificio en un matadero de cerdos de Países Bajos. El método de referencia fue el uso de un esterilizador con agua a 82 °C. Los grupos microbianos estudiados fueron recuento de aerobios mesófilos y *Enterobacteriaceae*.

Los cuchillos se sumergieron en agua caliente a 82 °C o bien en el desinfectante durante 0, 1, 10, 30 y 60 segundos, respectivamente. Las hojas de cuchillo fueron muestreadas con placas Rodac (medio PCA para recuentos de aerobios mesófilos -viables totales- y medio VRBGA para enterobacterias).

Se evaluó el efecto desinfectante del agua a 82 °C y el de la solución desinfectante a base de peroxiácidos durante 3 días. La desinfección de cuchillos de 5 puestos diferentes en la cadena de sacrificio se llevó a cabo en esterilizadores de cuchillos convencionales. Se tomaron muestras de ambas caras de la hoja: sin desinfección, tras 1 segundo y tras 1 minuto.

Los resultados muestran que, tras 1 minuto de exposición en ambos, la eficacia del desinfectante a base de peroxiácidos fue igual o superior a la del agua a 82 °C tanto para aerobios mesófilos como para enterobacterias en las superficies muestreadas, en todos los casos. Se tomaron 60 muestras en total tras la evisceración y 60 tras incisión en tendón de Aquiles.

2.3 Sistema C, basado en agua peroxidada producida por electrólisis

El agua peroxidada (H_2O_2) es un potente oxidante de amplio uso como desinfectante. El sistema está basado en un proceso de electrólisis catalítica que se instala en línea, en las tuberías que distribuyen el agua.

Se aporta documentación en relación con diferentes ensayos, informes, validaciones en determinados sectores industriales, estudios y ejemplos de uso para demostrar la efectividad de la tecnología.

2.3.1 Estudios aportados con el sistema C

El estudio se ha realizado exclusivamente en la sala de despique de un matadero de cerdo ibérico, no en la nave o sala de matanza-carnización.

El objetivo del estudio fue comprobar la efectividad del agua peroxidada en la limpieza y desinfección de los cuchillos en mataderos con alta carga contaminante y validar esta tecnología para sustituir al sistema tradicional de agua a 82 °C.

El estudio se basó en una combinación de dos protocolos:

- Norma UNE-EN 13697:2015+A1:2020 (UNE-EN, 2020) (Antisépticos y desinfectantes químicos). Ensayo cuantitativo de superficies no porosas para la evaluación de la actividad bactericida y/o fungicida de los desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad. Método de ensayo sin acción mecánica y requisitos (fase 2/etapa 2). Se han utilizado bacterias alternativas, en lugar de las que obliga la norma.
- Protocolo del Departamento de Agricultura, Alimentación y Pesca de Irlanda, titulado “Sistemas alternativos para la desinfección de utensilios en empresas cárnicas” (Department of Agriculture, Food and the Marine of Ireland, 2012). Las herramientas de corte se desinfectan solo con el sistema alternativo. El lado izquierdo de la herramienta de corte se frota con un hisopo

inmediatamente después de su uso y antes de la desinfección. El lado derecho de la herramienta de corte se frota inmediatamente después de la desinfección. El tiempo que la herramienta de corte se desinfecta utilizando el sistema alternativo debe registrarse para cada hisopo.

Siguiendo el protocolo irlandés, se realizaron 4 tandas de muestreos con los 4 cuchillos.

Para cada tanda se prepararon 4 muestras de carne, se contaminaron con 1 ml de cada suspensión, se dejaron reposar 1 minuto y se procedió a realizar varios cortes en cada pieza, imitando el uso del cuchillo en la actividad normal. Seguidamente se tomó muestra con un hisopo por el lado izquierdo de toda la hoja del cuchillo, e inmediatamente, se colocó el cuchillo en el recipiente con agua peroxidada. Tras 15 minutos de desinfección, se sacó el cuchillo y se tomó muestra del lado derecho de toda la hoja del cuchillo con un nuevo hisopo. Todas las muestras se mantuvieron a refrigeración entre 4 y 8 °C hasta su procesamiento en el laboratorio.

Se realizaron las siguientes determinaciones microbiológicas (se indica el medio de cultivo):

- PCA para mesófilos a 30 °C (aerobios mesófilos).
- VRBGA para enterobacterias (*E. coli*).
- ChromoSalm para *Salmonella*.
- ALOA para *Listeria*.

Los resultados obtenidos indicaron que para todos los microorganismos (mesófilos aerobios, enterobacterias, *Salmonella enterica* y *L. monocytogenes*), las muestras tras la desinfección fueron inferiores a 10 ufc/cm², siendo no detectables en la mayoría de los análisis.

2.4 Sistema D, basado en una mezcla de un detergente alcalino y un desinfectante neutro no oxidante

Es un detergente alcalino a base de hidróxido sódico e hipoclorito sódico combinado con un desinfectante neutro no oxidante, el cual contiene, entre otros compuestos, N-(3-aminopropil)-N-dodecilpropano-1,3-diamina y ácido salicílico.

El producto combinado puede usarse en CIP (procesos de limpieza *in situ*) ya sea sólo o en disolución ácida o alcalina y también puede usarse por pulverización o inmersión.

2.4.1 Estudios aportados con el sistema D

La prueba se desarrolló sobre un sistema de desinfección cilíndrico con capacidad para 8 cuchillos y se ha trabajado con 3 cuchillos en el interior. Los 3 cuchillos se identifican por el color del mango (rojo, negro y gris). Se llevaron a cabo 2 pruebas.

Se realizó una primera prueba con detergente añadido a agua potable (3 g/l) y se tomaron muestras de la superficie de los cuchillos después de 2 y 4 horas de trabajo (antes de introducir el cuchillo en el recipiente de desinfección se enjuaga con agua potable). Se detectó la presencia de aerobios inferiores a 10 ufc/cm² salvo en una muestra >10² ufc/cm². Los recuentos de enterobacterias fueron inferiores a 5 ufc/cm² y no se detectó *Listeria*.

Se realizó una segunda prueba con 6 g/l de detergente a base de hidróxido sódico e hipoclorito sódico y 3 g/l de desinfectante neutro no oxidante, y se tomaron muestras de la superficie de los cuchillos después de 4 y 8 horas de trabajo (antes de introducir el cuchillo en el recipiente de desinfección se enjuaga con agua potable). Se detectó la presencia de aerobios inferiores a 10 ufc/cm² y ausencia de enterobacterias y de *Listeria*.

Finalmente, se realizó una tercera valoración después de 8 horas de trabajo (para estudiar qué puede suceder en el caso de prolongación de la jornada de trabajo). Se detectó la presencia de aerobios inferiores a 5 ufc/cm² y ausencia de enterobacterias y de *Listeria*.

3. Comentarios a los estudios valorados

Los estudios presentados suponen un esfuerzo apreciable para demostrar la equivalencia entre la desinfección de herramientas en mataderos y salas de despiece con agua caliente, a una temperatura no inferior a 82 °C, y otros sistemas alternativos de desinfección.

Sin embargo, estos estudios presentan, en distintos grados, deficiencias metodológicas que se pueden resumir en:

- Métodos de análisis: el método de análisis microbiológico (placas de contacto), no es un método de análisis adecuado para la realización de estos estudios, siendo más adecuado utilizar hisopos.
- Microorganismos: no se incluye el análisis de microorganismos patógenos de origen alimentario de interés en mataderos. Se estudian microorganismos aerobios mesófilos y enterobacterias. Tan solo se incluye *Salmonella* en uno de los estudios y en dos *Listeria*.
- Número de muestras y de establecimientos: el número de días de muestreo o de segmentos de análisis y de mataderos es insuficiente.
- Información de los productos y de los protocolos utilizados: la información de los productos desinfectantes utilizados es insuficiente. Los estudios realizados y la metodología analítica utilizada no se describen de forma detallada.

4. Recomendaciones de muestreo

Para demostrar la aceptabilidad de los métodos alternativos a la esterilización con agua a una temperatura mínima de 82 °C debe seguirse un procedimiento de muestreo establecido a tal efecto.

En este sentido, se deben cumplir los siguientes requisitos:

- Independencia de las muestras tomadas en matadero. Para ello, las muestras se tomarán en un mismo intervalo de tiempo, de distintos esterilizadores.
- Armonización de los procedimientos de toma de muestras y análisis, de forma que los resultados puedan ser comparables.
- Representatividad de las muestras tomadas, principalmente en distintas localizaciones dentro de un mismo matadero, así como en distintos mataderos.
- Se asume que las todas muestras analizadas deberán ser aceptables considerando los criterios establecidos para aerobios mesófilos (0-10 ufc/cm²), enterobacterias (0-1 ufc/cm²), así como ausencia/cm² para los patógenos *L. monocytogenes* y *Salmonella*.

Dado que la naturaleza de un plan de muestreo está asociada a una fundamentación estadística, es necesario asumir una hipótesis de partida y nivel de confianza para la determinación del número de muestras necesario a tomar.

Las distribuciones estadísticas se utilizan para representar la frecuencia o probabilidad de aparición de un conjunto de valores. Para la determinación del número mínimo de muestras para la aceptabilidad de los métodos alternativos estudiados, se ha utilizado una distribución Binomial, así como una distribución *a priori* tipo Beta. En el caso de la distribución Beta, ésta se define por dos parámetros; $\alpha = s+1$; y $\beta = n-s+1$; donde s = número de muestras positivas o inaceptables; y n = número de muestras totales.

La distribución Binomial a su vez se define por los parámetros n = número de muestras totales; y p = probabilidad de éxito o detección de muestras positivas. En este caso, se ha utilizado una distribución combinada Beta-Binomial para la estimación del número de muestras positivas (y): Binom (n, p), donde p = Beta (α, β).

En este sentido, se ha procedido a estimar el % de positivos/1000 muestras aplicando distintos planes de muestreo en un rango de $n = 10-200$; $c = 0$.

$$\% \text{ positivos} = y/n$$

$$\% \text{ positivos/1000 muestras} = (y/n) * 1000$$

A partir de los datos generados, se ha realizado una simulación de MonteCarlo en @Risk con 1000 iteraciones, obteniéndose una serie de distribuciones de probabilidad que representan la frecuencia de aparición de positivos/1000 muestras.

Para la estimación del número mínimo de muestras a tomar, se ha relacionado el valor medio obtenido a partir de cada distribución del número de positivos/1000 muestras con los valores de $n = 10; 50; 100; 150$ y 200 (Figura 1).

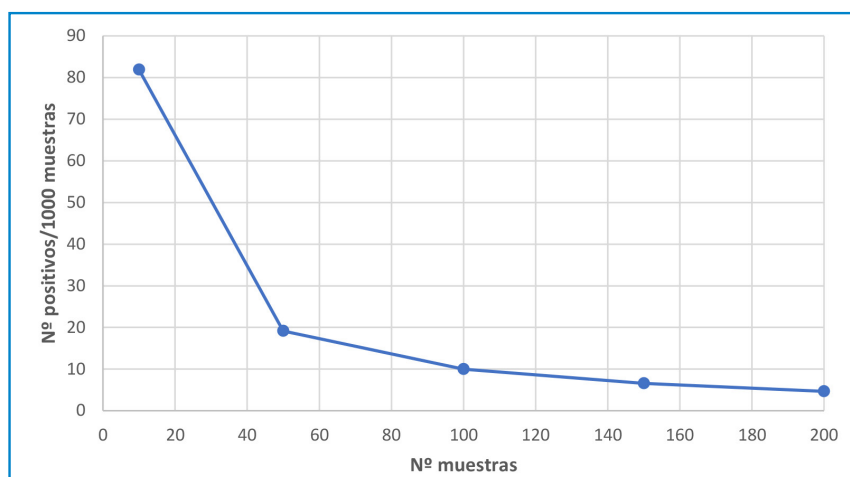


Figura 1. Representación gráfica de la relación entre el valor estimado del número de positivos/1000 muestras y el número de muestras tomado, asumiendo un valor de $c = 0$.

Tal y como se aprecia en la Figura 1, el hecho tomar un número superior a 100 muestras no tiene una repercusión significativa sobre el descenso en el número de positivos/1000 muestras, por lo que se considera pertinente la elección del plan de muestreo de $n=100$; $c=0$.

Finalmente, con objeto de aumentar la representatividad, para considerar la aceptabilidad de los métodos alternativos se sugiere tomar 5 muestras por matadero y por día (tomadas de al menos 4 localizaciones distintas), utilizando en el estudio 4 mataderos diferentes, durante 5 días no consecutivos uniformemente repartidos en un periodo de 3 meses (100 muestras en total).

Conclusiones del Comité Científico

La esterilización de los cuchillos con agua caliente a temperatura no inferior a 82 °C es un modo de garantizar una adecuada seguridad alimentaria en las operaciones de carnización y despiece.

Se han valorado varios estudios de sistemas alternativos en los que se observa que los compuestos utilizados dan lugar a reducciones de los microorganismos estudiados como contaminantes de las herramientas utilizadas en mataderos y salas de despiece. Los resultados presentados muestran reducciones similares a las alcanzadas con el método oficial en las condiciones de dichos estudios.

Sin embargo, dichos estudios presentan limitaciones metodológicas (número de repeticiones, plan de muestreo, microorganismos utilizados y metodología analítica) que no permiten establecer si son equivalentes al método aprobado actualmente para la desinfección de herramientas (agua a temperatura no inferior a 82 °C).

Se recomienda la elaboración de una Guía sectorial que defina, siguiendo las recomendaciones expuestas en este informe, el protocolo detallado a seguir para demostrar la equivalencia entre la desinfección de herramientas en mataderos y salas de despiece con agua caliente, a una temperatura no inferior a 82 °C, y la desinfección con estas y otras sustancias.

Referencias

- Abdalla, M.A., Suliman-Siham, E. y Bakhtiet, A.O. (2010). Method for reducing contamination of indigenous cattle carcasses during slaughtering. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 56 (125), pp: 86-93.
- Baca, R.A. (2012). Efecto del ácido peracético sobre la supervivencia de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* en superficies inertes contaminadas. Universidad Nacional de Trujillo, Perú. Disponible en: <https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1020/Baca%20Ardiles%2c%20Rosa.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y> [acceso: 17-11-21].
- Block, S.S. (2001). Peroxygen compounds. En libro: *Disinfection, sterilization, and preservation*. Block, S.S. Filadelfia. Lippincott Williams & Wilkins, pp: 185-204.
- CE (2001). Comisión Europea. Opinion of the Scientific Committee on Veterinary Measures relating to Public Health (SCVPH). The cleaning and disinfection of knives in the meat and poultry industry. Disponible en: https://ec.europa.eu/food/system/files/2020-12/sci-com_scv_out43_en.pdf [acceso: 17-11-21].
- Codex Alimentarius (2005). Código de prácticas de higiene para la carne. CAC/RCP 58/2005. Disponible en: https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FStandards%252FCXC%2B58-2005%252FCXP_058s.pdf [acceso: 17-11-21].
- Department of Agriculture, Food and the Marine of Ireland (2012). Trader Notice MH 07/2012. Alternative systems for disinfecting tools in meat plants. DAFM, Dublin.

- FAO (2007). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Buenas prácticas para la industria de la carne. FAO serie Producción y Sanidad Animal 2. Roma. Disponible en: <https://www.fao.org/3/y5454s/y5454s.pdf> [acceso: 17-11-21].
- Heres, L. y Verkaar, E. (2011). Alternative method for knife disinfection with INSPEXX 200 is more efficient than 82 °C water. En libro: *Proceedings of the 9th International Conference on the Epidemiology and Control of biological, chemical and physical hazards in pigs and pork. Safe Pork*. Maastrich, pp: 151-154.
- Hernández, A. (2006). Aportaciones al estudio de la actividad antimicrobiana de los antisépticos y desinfectantes [tesis doctoral]. Badalona: Facultad de Ciencias, Departamento de Genética y Microbiología, Universidad Autónoma de Barcelona. Disponible en: <https://www.tesisenred.net/handle/10803/3898#page=1> [acceso: 17-11-21].
- ICMSF (1998). International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microorganisms in Foods 6. *Microbial Ecology of Food Commodities*. Gaithersburg. Aspen Publishers Inc.
- Koutsoumanis, K. y Sofos, J.N. (2004). Microbial contamination of carcasses and cuts. En libro: *Encyclopedia of Meat Sciences*. Jensen. Londres. Elsevier Academic Press, pp: 727-737.
- Kunigk, L. y Almeida, M. (2001). Action of peracetic acid on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in suspension or settled on stainless steel surfaces. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32, pp: 38-41.
- McEvoy, J.M., Doherty, A.M., Sheridan, J.J. y McGuire, L. (2000). Contamination of beef carcasses during hide removal and use of a test bacterial de contamination system on beef hide. The National Food Centre Research Report No. 25. Dublin. Teagasc.
- Moreno, B. (2006). En libro: *Higiene e Inspección de Carnes*, Vol. I. 2ª ed. Madrid. Editorial Díaz de Santos.
- O'Brien, S.M., Duffy, G., Carney, E., Sheridan, J.J., McDowell, D.A. y Blair, I.S. (2005). Prevalence and numbers of *Escherichia coli* O157 on bovine hides at a beef slaughter plant. *Journal of Food Protection*, 68 (4), pp: 660-665.
- Rahkio, M. y Korkeala, H. (1996). Microbiological contamination of carcasses related to good hygiene practice and facilities on slaughtering lines. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 37, pp: 219-228.
- Sammarco, M.L., Ripabelli, G., Ruberto, A., Iannitto, G. y Grasso, G.M. (1997). Prevalence of *Salmonellae*, *Listeriae*, and *Yersiniae* in the slaughterhouse environment and on work surfaces, equipment, and workers. *Journal of Food Protection*, 60 (4), pp: 367-371.
- Sheridan, J.J. (2004). Curso de Doctorado en Programa de Doctorado con Mención de Calidad "Estrategias para la mejora y control de la calidad de los alimentos de origen animal". Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Universidad de León.
- Stelter, N. (2009). Test report on the bactericidal surface activity of Inspexx 210 following EN 13697.
- Tamplin, M.L., Feder, I., Palumbo, S.A., Oser, A., Poder, L. y Luchansky, J.B. (2001). *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* biotype I on swine carcasses processed under the hazard analysis and critical control point-based inspection models project. *Journal of Food Protection*, 64 (9), pp: 1305-1308.
- UE (1964). Directiva 64/433/CEE del Consejo, de 26 de junio de 1964, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carne fresca. DO L 121 de 29 de julio de 1964, pp: 2012-2032.
- UE (1992). Directiva 92/116/CEE del Consejo, de 17 de diciembre de 1992, por la que se modifica y actualiza la Directiva 71/118/CEE relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carne fresca de aves de corral. DO L 62 de 15 de marzo de 1993, pp: 1-37.
- UE (1995). Directiva 95/68/CE del Consejo, de 22 de diciembre de 1995, por la que se modifica la Directiva 77/99/CEE relativa a problemas sanitarios en materia intercambios intracomunitarios de productos a base de carne. DO L 332 de 30 de diciembre de 1995, pp: 10-14.
- UE (2001). Decisión 2001/471/CE, de la Comisión, de 8 de junio de 2001, por la que se establecen normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos, de conformidad con la Directiva 64/433/CEE, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carne fresca, y con la Directiva 71/118/CEE, relativa a problemas sanitarios en materia de carnes frescas de aves de corral. DO L 165 de 21 de junio 2001, pp: 48-53.

UE (2004). Reglamento (CE) N° 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. DO L 139 de 30 de abril de 2004, pp: 55-205.

UE (2013). Reglamento (UE) N° 101/2013 de la Comisión, de 4 de febrero de 2013, relativo a la utilización de ácido láctico para reducir la contaminación de superficie de las canales de bovinos. DO L 34 de 5 de febrero de 2013, pp. 1-3.

UNE-EN (2020). Norma UNE-EN 13697:2015+A1:2020. Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de superficie no porosa para la evaluación de la actividad bactericida y/o fungicida de los desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad. Método de ensayo sin acción mecánica y requisitos (fase 2/etapa 2). Madrid.

