



UNIVERSIDAD PARA LA COOPERACIÓN INTERNACIONAL

Facultad en Ciencias de la Salud

**APLICACIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA PREDICTIVA PARA EL
ESTUDIO DEL CRECIMIENTO, SUPERVIVENCIA E
INACTIVACIÓN DE LA BACTERIA *Escherichia coli* DURANTE LOS
PROCESOS DE FAENAMIENTO DE POLLO EN UNA EMPRESA
PROCESADORA DE ALIMENTOS UBICADA EN QUITO –
ECUADOR**

Tesis presentada para optar por el grado académico de Magíster en Gerencia de
Programas Sanitarios en Inocuidad de Alimentos

Luis Alberto Menéndez Guerrero

2014

San José - Costa Rica

A mi esposa Majo
A mi hija Martina Luana

**Aplicación de la microbiología predictiva para el estudio del crecimiento,
supervivencia e inactivación de la bacteria *Escherichia coli* durante los procesos de
faenamiento de pollo en una empresa procesadora de alimentos ubicada en Quito –
Ecuador**

Menéndez-Guerrero, Luis Alberto

Intercalidad Cía. Ltda. Consultora en Sistemas de Gestión. Thomas Bermur N39-18 y

Coremo. CP 170511 Quito- Ecuador.

RESUMEN

La aplicación de la microbiología predictiva constituye una alternativa para establecer un sistema de inocuidad alimentaria en conjunto con el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC o HACCP, por sus siglas en inglés) y la evaluación de riesgos, dado que el uso de paquetes de predicción del crecimiento microbiano permitirían la obtención de resultados que pueden ser usados para el monitoreo de procesos con la variación de parámetros como pH, temperatura, concentración de sal y potencial crecimiento/muerte de microorganismos específicos, además permite la reducción de recursos, otorgando un ahorro económico acompañado de las múltiples aplicaciones obteniéndose resultados comparables con los obtenidos según la microbiología clásica. Los resultados se introdujeron en un paquete informático predicción de crecimiento microbiano (Combase Predictor). Se encontraron ligeras diferencias entre los recuentos obtenidos según las técnicas de microbiología clásica y los valores dados por el programa Combase. Los modelos predictivos permiten estimar el número de microorganismos presentes en un alimento durante el procesamiento o en el momento del consumo, a partir de una población conocida en un momento previo de la historia del producto. El objetivo del estudio fue determinar la población de *Escherichia coli* y parámetros físico - químicos (pH, % NaCl y temperatura) antes y después de las diferentes etapas del proceso de faenamiento de pollo.

ABSTRACT

Application of predictive microbiology is an alternative to establish a food safety system in conjunction with Hazard analysis and critical control points (HACCP) and risk assessment, since the use of software of predictive microbial growth will allow to obtain results, that can be used for process monitoring varying process parameters such as pH, temperature, salt concentration and potential growth/death of specific microorganisms. Moreover, it allows the reduction of resources, providing a cost savings accompanied by multiple

applications obtaining results comparable to those obtained according to the classical microbiology. Results were introduced into an software of microbial growth prediction (Combase Predictor). Slight differences were found between the counts obtained by classical microbiology techniques and the values given by Combase program. Predictive models permit to estimate the number of microorganisms present in a food during processing or at the time of consumption, from a known population at an earlier stage of the product's history. The aim of the study was to determine the population of *Escherichia coli* and physical and chemical parameters (pH, % NaCl and temperature) before and after different stages during chicken slaughtering.

INTRODUCCIÓN

Escherichia coli (*E.coli*) es una bacteria Gram negativa cilíndrica, anaerobia facultativa con un metabolismo fermentativo y respiratorio, puede moverse por acción de flagelos o estar inmóvil (Holt, 1994). Vive en el intestino tanto de seres humanos como de animales de sangre caliente, existiendo cepas inofensivas, así como cepas que pueden causar graves enfermedades al contaminar alimentos, agua y el medioambiente (Organización Mundial de la Salud, 2013). La fuente de contaminación en los alimentos son las heces humanas y de animales y su epidemiología dependerá de la variedad y del sistema de producción agrícola y de alimentos que se maneje (FAO, s.f.). Son varios los alimentos implicados en infecciones por este microorganismo como hortalizas, ensaladas, carne picada insuficientemente cocida, leche fresca, carne de pollo, entre otros (Montville, et al, 2011); la contaminación puede producirse tanto en la preparación del producto antes de ser consumido o en la industria donde es procesado.

El faenamiento de pollos sigue un determinado proceso desde la recepción hasta la comercialización, que incluye etapas como: colgado y aturdido, desangrado, escaldado (50°C), desplumado, lavado, eviscerado, enfriamiento (prechiller 15°C, 20 ppm Cl y chiller 4°C, 20 ppm Cl,) y por último el empacado (Feldman, 2000). El proceso inicia con una carga considerable de microorganismos, entre los cuales se encuentra presente la *E. coli*,

debido a las condiciones en las que llegan los pollos a la planta procesadora y el control de la proliferación y disminución de la bacteria en el producto dependerá del manejo que se le dé en el proceso. Normalmente se encuentra como parte de la microflora nativa del intestino delgado del pollo especies dominantes como *E. coli*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, así como anaerobios obligados como *Clostridium*, *Propionibacterium*, entre otros. El predominio de una especie sobre otra, está dado por los mecanismos de acción de la denominada “exclusión competitiva” que responde a factores como competencia por lugares de unión de la bacteria al epitelio, crecimiento en hábitats con baja tensión de oxígeno (condición excluyente para *Salmonella*), producción de ácidos orgánicos o bacteriocinas que inhiben bacterias patógenas como *Salmonella* (La Ragione, Martin & Woodward 2004; Laurencio, Rondón, Milián, Pérez, Arteaga & Bocourt, 2012).

Una de las etapas más contaminantes es el momento de la evisceración, por esta razón las etapas de enfriamiento son críticas para poder disminuir y controlar todas aquellas bacterias que se encuentran presentes en la canal, debido a la temperatura final que debe alcanzar el producto (Valera, Ferrer, Huerta & Esparza, 1997).

La garantía de la inocuidad y calidad de la carne es responsabilidad de la industria procesadora que tradicionalmente se ha basado en gran parte en la inspección regulatoria y sistemas de muestreo, sin embargo no se puede garantizar la protección total de los consumidores a no ser que se realice la inspección y toma de muestras la totalidad de la producción. En la industria cárnica este nivel de inspección es poco práctico por razones económicas y logísticas (Armitage, 1997; McDonald y Sun, 1999).

Por otro lado, la determinación de *E. coli* en alimentos supone la aplicación de técnicas tradicionales con un elevado costo (medios de cultivo, materiales de laboratorio, mano de

obra y tiempo de obtención de datos) para la industria, anualmente se realizan 1500 millones de ensayos microbiológicos correspondiendo un 58% a la industria alimentaria (Medina, 2008), es por ello que en los últimos años se han venido desarrollando métodos rápidos y automatizados, y en ocasiones es necesario que los resultados positivos obtenidos con método rápidos no validados sean confirmados con métodos de referencia establecidos (Martín De Santos, s.f.). Con el fin de desarrollar y aplicar modelos matemáticos para predecir la respuesta de microorganismos frente a variables ambientales específicos (Ross y MacMeekin, 1994; McDonald y Sun, 1999; Mertens et al, 2012) se ha desarrollado un área multidisciplinar emergente de la microbiología de alimentos que abarca disciplinas como matemáticas, microbiología, química e ingeniería denominada microbiología predictiva. Haciendo uso de esta herramienta se han realizado numerosas investigaciones para modelar el crecimiento microbiano como parte de una evaluación cuantitativa de riesgos (Signorini, 2008; Nauta, 2002) y además de servir como soporte para el análisis de peligros y puntos críticos de control en industrias alimentarias (McDonald y Sun, 1999). En este sentido se han realizado numerosos estudios sobre la predicción del crecimiento de *E. coli* (Buchanan y Klaeitter, 1992; Buchanan et al, 1993; Buchanan y Bagi, 1994) en carne (Signorini, 2008; Tampling et al 2005), col (Ding et al, 2012), leche (Céspedes, 2012), entre otros.

El objetivo del presente trabajo de investigación fue aplicar la microbiología predictiva en el estudio del crecimiento, supervivencia e inactivación de la bacteria *Escherichia coli*, durante los procesos de faenamiento de pollo en una empresa procesadora de alimentos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestra.- En la empresa POFASA (Quito-Ecuador) se tomaron muestras antes y después de cinco fases del faenamiento de pollos: desplumado, lavado, prechiller, chiller y

empaque. De igual forma se tomó una muestra posterior a la caída al piso de un pollo y luego de haberle sumergido en una solución al 1 ppm de cloro previo a la etapa del empaclado. Se realizó un lavado de las canales en bolsas estériles con agua peptonada (0,1%). Inmediatamente se trasladaron las muestras en una caba con hielo al laboratorio para su análisis microbiológico.

Análisis físico-químico.- En el agua de lavado se determinó el pH utilizando un potenciómetro ThermoOrion (según la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 0783:85). La concentración de cloruro se realizó según la NTE INEN 780:85, 10 mL de agua de lavado se homogenizaron con 90 mL de agua destilada, se agregó 1 ml de solución de dicromato de potasio (K_2CrO_4) al 10% (p/v). Se tituló con una solución de nitrato de plata ($AgNO_3$) 0,05 N hasta la aparición de un precipitado color rojo ladrillo persistente. Con una cantidad de agua destilada igual a la de la alícuota de muestra (10 ml) más 1 ml de dicromato de potasio al 10% se obtuvo un blanco que permitió constatar la reacción final. Se calculó la concentración de cloruros expresado en porcentaje de NaCl, según la ecuación 1.

$$NaCl = AgNO_3(ml) * 0,00293 \left(\frac{g}{ml} \right) * 100\% \quad [1]$$

Donde:

$AgNO_3$: ml consumidos de solución 0,05 N de Nitrato de plata.

0,00293: Equivalente de NaCl en 1 ml $AgNO_3$

Análisis Microbiológico.- A partir del agua peptonada se realizaron diluciones sucesivas (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}); 1 ml de cada dilución se inoculó en Placas 3M™ Petrifilm™ para recuento de *E. coli* y *Coliformes*, las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se realizó el recuento de colonias de *E.*

coli. Los resultados se expresaron como Log #UFC/g. El ensayo completo se realizó por triplicado.

Aplicación de microbiología predictiva.- se utilizó el paquete informático ComBase Predictor (resultado de la colaboración del Instituto de Investigación en Alimentos del Reino Unido y del Departamento de Agricultura de Estados Unidos y Australia) que permite la predicción del crecimiento de bacterias. Se realizó la predicción del crecimiento de *E. coli* en cada etapa de muestreo; se ingresaron valores de: población de la bacteria (resultado del recuento en cada fase de muestreo), temperatura, pH del alimento, concentración cloruros y el estado fisiológico. Este último permite conocer las condiciones a las cuales se sometió a la muestra inoculada, con una escala de 0 a 1 determinando que 0 sería el medio más hostil bacteriano y 1 el medio óptimo de crecimiento tomando en cuenta las condiciones extrínsecas e intrínsecas a las cuales está expuesta la muestra.

El paquete Combase presenta un parámetro denominado "estado fisiológico (Phys. state)", éste es un número adimensional entre 0 y 1 que expresa la idoneidad física de las células en su ambiente. Dado que el usuario no es capaz de establecer el valor de Phys. state se utiliza un valor típico por defecto. Si el cuadro de entrada se queda vacío el programa define un número dado por los experimentos utilizados como base del modelo de predicción (Combase, 2013).

Los resultados encontrados en el paquete Combase fueron comparados con los obtenidos mediante las técnicas de microbiología clásica. El tiempo de observación en el que se realizó la predicción de crecimiento fue de 15 minutos, que es el tiempo promedio mayor al que tarda cada proceso en el faenamiento del pollo.

El tiempo promedio en el que se evidencia un cambio en el modelo de predicción es sobre los 20 minutos dependiendo de las distintas etapas donde se realizó el estudio. Se determinó además la velocidad de crecimiento y tiempo de generación de la bacteria.

RESULTADOS

Análisis físico-químico.- En la tabla No. 1 se presentan los valores del porcentaje de cloruros, pH, temperatura interna en cada fase de muestreo.

Tabla 1. Parámetros físico-químicos y población inicial de *E. coli* (Log #UFC/g) en cada etapa de muestreo

| Fase de muestreo | NaCl (%) | pH | T (°C) | Log#UFC |
|------------------|----------|------|--------|---------|
| Pelado | 3,20 | 7,55 | 41,40 | 2,80 |
| Ducha | 3,10 | 7,43 | 40,50 | 3,90 |
| Prechiller | 3,00 | 7,61 | 35,00 | 4,20 |
| Chiller | 2,80 | 7,49 | 28,80 | 3,10 |
| Después Caída | 3,30 | 7,40 | 3,10 | 3,50 |
| Empaque | 3,60 | 7,40 | 3,60 | 2,60 |

Aplicación de microbiología predictiva.- Los parámetros físico-químicos de las canales de pollo, se ingresaron en el software de predicción Combase (figura 1), tomados como factores extrínsecos que influyen sobre el crecimiento de *E. coli* en el producto, se ingresó adicionalmente la población inicial de *E. coli*, determinada según técnicas de análisis microbiológico tradicionales en cada etapa de procesamiento (tabla 1), esta población se verá directamente influenciada por los factores extrínsecos e intrínsecos siendo la base del modelo predictivo.

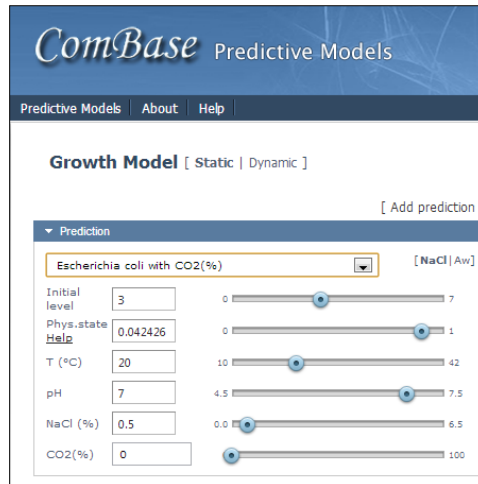


Figura 1. Formato de ingreso de datos para predicción de crecimiento de *E. coli* en el paquete Combase Predictor

Se determinó que una vez aplicados los procesos de lavado (ducha), prechiller, chiller y desinfección posterior a la caída, la población de *E. coli* disminuyó en 0,4; 1,1; 0,8 y 0,1 unidades logarítmicas, respectivamente; alcanzando al final del procesamiento una población de 2,6 Log₁₀ UFC/g de *E. coli*, como se puede observar en la Tabla 2, obteniéndose un producto que cumple con los requisitos microbiológicos para su comercialización según los límites permitidos por la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 346:2010; pero, para el caso de la desinfección posterior a la caída del pollo y previo al empaque, la población obtenida fue de 2,6 Log₁₀ UFC/g de *E. coli*, obteniéndose un producto que no cumple con los requisitos microbiológicos para su comercialización según los límites permitidos por la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 346:2010; se determinó además que la población de *E. coli* no varía entre los valores iniciales (antes de cada etapa de procesamiento) obtenidos por la microbiología clásica y aquellos obtenidos a través de la microbiología predictiva (tabla 2), en contraste con los resultados obtenidos

"después" de cada etapa (según la microbiología clásica) que sí muestran diferencia con los valores predichos por el paquete informático.

Tabla 2. Comparación de la población de *E. coli* determinada mediante Microbiología clásica y predictiva, en cada etapa de faenamamiento de pollo.

| Fase de muestreo | Microbiología clásica | | Microbiología predictiva |
|------------------|-----------------------|---|--------------------------|
| | Antes | después | |
| (Log10 UFC/g) | | | |
| Pelado | 2,8 | 2,8 | 2,85 |
| Ducha | 3,9 | 3,5 | 3,96 |
| Prechiller | 4,2 | 3,1 | 4,27 |
| Chiller | 3,1 | 2,3 | 3,10 |
| Empaque | 2,6 | 2,6 | 2,60 |
| | Posterior a la caída | Antes de empaque (posterior desinfección) | |
| Caída | 3,5 | 3,4 | 3,50 |

A través del paquete Combace Predictor se determinó la velocidad de crecimiento y el tiempo de duplicación de la bacteria *E. coli* en cada etapa de procesamiento (tabla 3).

Tabla 3. Velocidad de crecimiento (log.conc/h) y Tiempo de duplicación (horas) de *E. coli* luego de cada etapa de faenamamiento de pollo obtenidos mediante el paquete Combace Predictor

| Fase de muestreo | Velocidad de crecimiento (log.conc/h) | Tiempo duplicación (horas) |
|------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| Pelado | 0,215 | 1.40 |
| Ducha | 0,255 | 1.18 |
| Prechiller | 0,310 | 0,97 |
| Chiller | 0,016 | 18,54 |
| Caída | 0,015 | 19,87 |
| Empaque | 0,015 | 20.62 |

DISCUSIÓN

La determinación de los parámetros físico-químicos permiten evaluar la influencia de los mismos sobre el crecimiento bacteriano en los alimentos, siendo éstos ecosistemas complejos, donde los factores intrínsecos (inherentes al propio alimento como el pH, presencia de solutos, actividad de agua y nutrientes) y los factores extrínsecos (presencia de otras bacterias, atmósfera de almacenamiento y temperatura) influyen directamente sobre el crecimiento bacteriano (Montville, 2011; Willey et al, 2011). Varios autores (Krist et al., 1998 y McMeekin et al, 1993) han demostrado la reproducibilidad de respuestas de las bacterias frente estos factores de crecimiento a través de modelos matemáticos.

En este sentido, estimar el número de microorganismos presentes en un alimento durante el procesamiento o en el momento del consumo, a partir de un población conocida en un momento previo de la historia del producto (dos Santos Eduardo, 2007), es posible gracias a la aplicación de modelos predictivos (figura 1).

La diferencia encontrada entre los resultados obtenidos por las técnicas de microbiología clásica y los valores dados por el paquete Combase probablemente se debería a la incertidumbre del método que representa la falta de conocimiento de valores de parámetros tanto extrínsecos como intrínsecos propios de este producto y sus condiciones de faenamiento, esta incertidumbre se reduciría al realizar posteriores medidas (Signorini, 2008). Se debe considerar además que bajo las condiciones ambientales en las que se encuentra el producto durante el procesamiento (chiller, caída y empaque) y el tiempo corto que transcurre entre cada etapa, los resultados obtenidos sugieren que la población de *E. coli* se mantendría en fase lag o fase de latencia, ya que como explican varios autores, a temperaturas menores a 10°C la fase lag es muy prolongada (Signorini, 2008; Tamplin et

at, 2005) a pesar de que se han encontrado reportes de crecimiento de *E. coli* en rangos de 6-8°C (Tamagnini, et al, 2011; Jones, et al, 2003).

También, el haber encontrado experimentalmente menor población de *E. coli* luego de las etapas de lavado, prechiller, chiller y desinfección que los valores dados por el paquete Combase podría deberse a que factores como el tiempo transcurrido entre la toma de muestra y el momento del análisis así como la temperatura de transporte de la muestra ya que puede afectar y producir una disminución de la población de la bacteria en el producto; además, como se mencionó anteriormente, siendo los alimentos sistemas complejos, es importante destacar el efecto de los factores ambientales sobre el crecimiento de los microorganismos.

Como se muestra en la tabla 3, existe un ligero incremento en la velocidad de crecimiento de la bacteria desde el proceso de pelado, lavado (ducha) y prechiller, mientras que luego del chiller y en el producto ya empacado la velocidad de crecimiento se mantiene prácticamente constante. También se determinó tiempo de duplicación, que es el tiempo necesario para que una célula se divida (y su población se duplique), este tiempo puede variar considerablemente entre los microorganismos y con las condiciones ambientales como la temperatura (Tortora et al, 2007). La velocidad de crecimiento se obtiene a partir de la pendiente de una gráfica del logaritmo natural del número de UFC versus el tiempo que está dada por la ecuación de Monod que indica la afinidad del microorganismo por el sustrato. A medida que baja la temperatura se disminuye la velocidad de crecimiento y se incrementa el tiempo de duplicación (Willey et al, 2011; Tortora et al, 2007).

La determinación de estos parámetros permite conocer el comportamiento de una población bacteriana bajo condiciones específicas de pH, temperatura, composición atmosférica de almacenamiento, entre otras, en este sentido la modelización predictiva, que

integra el comportamiento microbiano con otras variables del procesado, ha ganado terreno en el campo de la industria cárnica para la predicción de la vida media (Rodríguez, 2003; Tirado et al., 2005) debido a las ventajas que tiene un modelo predictivo frente a la obtención de datos usando técnicas clásicas, entre estos se tiene el desarrollo de nuevos productos, ya que los resultados microbiológicos derivados de cambios en la composición o procesamiento de alimentos pueden ser evaluados rápidamente. Los modelos predictivos ayudan a tomar decisiones inmediatas en el reproceso de alimentos (Santiesteban & López, 2008); tal como se indica en la etapa de desinfección (1 ppm de cloro) posterior a la caída, se demuestra que esta no es efectiva para reducir a niveles aceptables la población de *E. coli*, debiendo optimizar esta; la alteración en la composición de un producto o en el régimen de procesado, puede tener un efecto significativo en la población microbiana y en el crecimiento microbiano de microorganismos oportunistas. La Microbiología Predictiva puede proporcionar una herramienta útil para evaluar rápidamente las consecuencias de cualquier cambio en la formulación o procesado (Rodríguez, 2003).



Figura 2. Predicción del crecimiento de *E. coli* luego de 7 días de conservación de canales de pollo a 10°C según el paquete Combase Predictor

Como otra de las aplicaciones de la microbiología predictiva se podría plantear el cálculo de la población de *E. coli* que se alcanzaría luego de 4.3 días (163,65 h) de conservación del pollo a 10°C (figura No. 2) es de una población de \log_{10} 2,99 UFC/g, teniendo un producto que cumple con las especificaciones de la norma y constituyendo un alimento apto para el consumidor. Numerosos autores proponen a la microbiología predictiva como una alternativa que permite estimar la vida útil de alimentos, valorar la eficacia de la higiene, identificar puntos críticos en el proceso de producción y distribución, ser un indicador sobre cómo las variables del medio influyen sobre el comportamiento de microorganismos tanto alterantes como patógenos y en consecuencia determinar la inocuidad del producto (dos Santos Eduardo, 2007; McMeekin et al, 1993; Grijspeerdt y Vanrolleghem, 1999). Los resultados obtenidos a través de la microbiología predictiva permiten realizar una valoración cuantitativa del riesgo microbiano al proporcionar información sobre la valoración de la exposición (dos Santos Eduardo, 2007) siendo una ayuda importante para la formulación de planes HACCP en base a la identificación de peligros y puntos críticos de control, especificando los límites y acciones correctivas según ha sido planteado desde hace ya varios años en diferentes trabajos de investigación (Mc Meekin y Ross, 2002; Miles y Ross, 1999).

CONCLUSIONES

La microbiología predictiva a través de los paquetes informáticos de predicción que pueden localizarse a través de la red, permite el ahorro de energía, materiales, equipos, es decir la reducción de recursos, otorgando un ahorro económico acompañado de las múltiples aplicaciones obteniéndose resultados comparables con los obtenidos según la

microbiología clásica. Por otro lado, se puede destacar la utilidad de la microbiología predictiva como una herramienta para complementar las prácticas y conceptos de la inocuidad de alimentos, estos concepto contemplan los objetivos de inocuidad (FSO) y objetivos de rendimiento (PO) con el fin de asistir a los gobiernos y a la industria de alimentos en la comunicación y cumplimiento de las metas de salud pública. En cuanto a la aplicación de la microbiología predictiva en la industria de faenamiento de pollo constituye una alternativa para establecer un sistema de inocuidad alimentaria en conjunto con el HACCP y la evaluación de riesgos, dado que el uso de paquetes de predicción del crecimiento microbiano permitirían la obtención de resultados que pueden ser usados para el mejoramiento y monitoreo de procesos con la variación de parámetros como pH, temperatura, concentración de sal y potencial crecimiento/muerte de microorganismos específicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Armitage, N.H. (1997) Use of predictive microbiology in meat hygiene regulatory activity. *Int. J. Food Microbiol.* 36, 103-109
- Buchanan, R.L.; Bagi, L.K. (1997) Effect of water activity and humectants identity on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiol.* 14:413-423
- Buchanan, R.L.; Bagi, L.K.; Goins, R.V.; Phillips, J.R. (1993) Response surface models for the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology*, 10:303-315.
- Buchanan, R.L.; Klawitter, L.A. (1992) The effect of incubation temperature, initial pH and sodium chloride on the growth kinetics of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiol.*, 9:185-196

- Céspedes, M.G. (2012) Predicción del comportamiento de *Escherichia coli* en leche cruda al elevar la temperatura hasta la pasteurizadora aplicando microbiología predictiva. Tesis. Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito-Ecuador
- Combase (2013) Consultado el 8 de octubre d 2013. [en línea]
http://modelling.combase.cc/ComBase_Predictor.aspx
- dos Santos Eduardo, A.J. (2007) Estudio del comportamiento cinético de microorganismos de interés en seguridad alimentaria con modelos matemáticos. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. España.
- FAO. (s.f.). Prevención de la E.coli en los alimentos.
- Feldman, P. (2000). Guía de aplicación de buenas prácticas de manufactura. Faena y procesamiento de pollos parrilleros.
- Grijspeerdt , K. y Vanrolleghem, P. (1999) Estimating parameters of the Baranyi model for bacterial growth. Food Microbiology 16:593-605
- Holt, J. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Ninth ed.). USA.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1985. Carnes y Productos Cárnicos; Determinación del pH. 5 ed. NTE INEN 0783:85 Ecuador.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1985. Carnes y Productos Cárnicos; Determinación del cloruros. 5 ed. NTE INEN 0780:85 Ecuador.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 2010. Carne y Menudencias comestibles de animales de abasto. Requisitos. 1 ed. NTE INEN 2 346:2010 Ecuador.
- Jones, T.; Gill C.O. y McMullen, L.M. (2004) Behavior of log-phase *Escherichia coli* at temperatures near the minimum for growth. Int J Food Microbiol; 88: 55-61

- Krist, K.A.; Ross, T. y McMeekin, T.A. (1998) Final optical density and growth rate; effects of temperature and NaCl differ from acidity. *International Journal of Food Microbiology* 43:195-203
- La Ragione, R., Martin, M., & Woodward, J. 2004. Competitive exclusion by *Bacillus subtilis* spores of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis and *Clostridium perfringens* in young chickens. *Vet. Microbiol.* 94:245
- Laurencio, M.; Rondón, A.; Milián, G.; Pérez, M.; Arteaga, F.; Bocourt, R. (2012). Islamiento de bacterias probióticas cecales de pollos y caracterización en el medio M2 de exclusión competitiva. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, Sin mes, 411-417
- Martín De Santos, R. (s.f.) Métodos rápidos y automatizados aplicados al análisis microbiológico de los alimentos. Universidad Complutense de Madrid. [en línea] <http://www.analesranf.com/index.php/mono/article/viewFile/1108/1125>
- McDonald, K. y Sun, Da-Wen (1999) Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology* 52 1-27
- McMeekin, T.A. y Ross, T. (2002) Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management. *International Journal of Food microbiology* 78: 133-153
- McMeekin, T.A.; Olley, J.; Ross T. y Ratkowsky, D.A. (1993). Predictive microbiology; theory and application. Research studies Press, Taunton, UK: 340
- Mertens L., Van Derlinden E. y Van Impe, J.F. (2012) Comparing experimental design schemes in predictive food microbiology: Optimal parameter estimation of secondary models. *Journal of Food Engineering* 112 : 119–133
- Miles, D.W. y Ross, T. (1999) Identifying and quantifying risks in the food production chain. *Food Australia* 51:298-303

Montville, T.J.; Matthews, K.R. y Kniel, K.E. (2011) Food Microbiology: An Introduction. 3era. Edición.

Nauta, M.J. (2002) Modelling bacteria growth in quantitative microbiological risk assessment: is it possible?. Int. J. Food Microbiol., 73:297-304

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2 346:2010

Organización_Mundial_de_la_Salud. (2013). *Escherichia coli*.

Rodríguez, R. (2003). Desarrollo y Validación de modelos matemáticos para la predicción de vida comercial de productos cárnicos. Tesis doctoral no publicada. Cordoba- España

Ross, T. y MacMeekin, T.A. (1994) Predictive microbiology. International Journal of Food Microbiology 23 241-264

Santesteban, N. y López, A. (2008). Descripción e importancia de algunos modelos predictivos utilizados como herramienta para la conservación de alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, 2, 14-26

Signorini, M.L. (2008) Modelo matemático predictivo del crecimiento de *Escherichia coli* O157 en carne vacuna. In Vet. 8(1): 47-57

Tamagnini, L.M.; Guzmán, M.C.; Rojo Lapalma, F; de Sousa, G.B.; González, R.D. y Budde, C.E. (2011) Behavior of *Escherichia coli* at low temperature in isothermal and non-isothermal conditions. Majorensis 7: 5-13

Tamplin, M.L.; Paolib, G.; Marmera, B.S. y Phillips, J. (2005) Models of the behavior of *Escherichia coli* O157:H7 in raw sterile ground beef stored at 5 to 46 °C. Int. J. Food Microbiol., 100:335-344.

Tian D.ng, Jun Wang, Fereidoun Forghani, Sang-Do Ha, Myung-Sub Chung, Gyung-Jin Bahk, In-Gyun Hwang, Elgorban Abdallah, y Deog-Hwan Oh (2012) Development of

Predictive Models for the Growth of *Escherichia coli* O157:H7 on Cabbage in Korea.
Journal of Food Science. Vol. 77, Nr. 5

Tirado, J.; Paredes, D.; Velázquez, G. y Torres, J.A. (2005). Crecimiento Microbiano en
Productos Cárnicos Refrigerados. Ciencia y Tecnología Alimentaria, 5 (1), 66-76.

Tortora, G.J.; Funke, B.R. y Case, C.L. (2007) Introducción a la Microbiología. Editorial
Médica Panamericana. 9na. edición

Valera, M.; Ferrer, O.; Huerta, N.; y Esparza, D. (1997). Efecto del enfriamiento sobre la
calidad microbiológica del pollo beneficiado. Revista Científica, FCV-LUZ.

Willey, Sherwood y Woolverton. Prescott's Microbiology (2011). 8va. Edición. McGraw-
Hill Interamericana.