

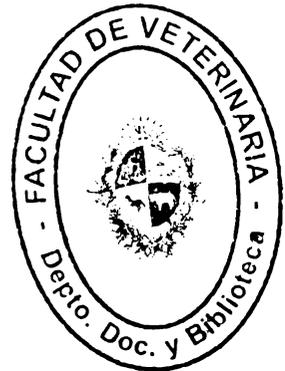
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**BÚSQUEDA DE MICROORGANISMOS INDICADORES DE VIDA ÚTIL, HIGIENE,
ALTERANTES y PATÓGENOS EN CARNE DE POLLO COMERCIALIZADA EN
MONTEVIDEO**

por

Diego LÓPEZ ORTIZ



TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Higiene, Inspección, Control
y Tecnología de los alimentos de origen
animal



FV-29208

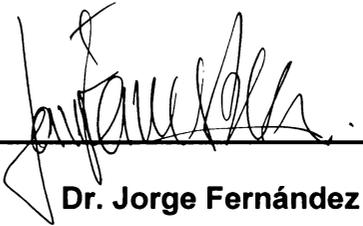
MODALIDAD: Estudio de caso

MONTEVIDEO
URUGUAY
2011

PÁGINA DE APROBACIÓN

TESIS DE GRADO aprobado por:

Presidente de Mesa:



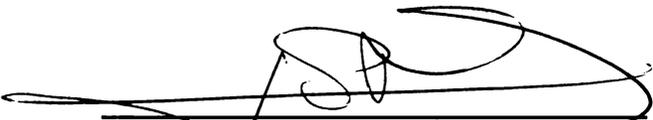
Dr. Jorge Fernández

Segundo Miembro (tutor):



Dra. Cristina López

Tercer Miembro:



Dr. Jose Pedro Dragonetti

Cuarto Miembro (co tutor):



Dr. Ariel Aldrovandi

Fecha:

12/10/2011

Autor:

Diego López Ortiz

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer por todo el apoyo brindado a la Dra. Cristina López y al Dr. Ariel Aldrovandi, tanto en lo académico como en lo humano.

A la Dra. Lilián Perdomo por todo su apoyo en este trabajo.

A Natalia Jorcin siendo uno de los pilares por los cuales hoy presento este trabajo final, le agradezco todo su apoyo, paciencia, y compañía de todos estos años.

A mi Flia. Raquel (Trompe), Analía (Oso) y Martín (Negro), por siempre estar.

A los Lulatos, Toto y Lula, que me recibieron, apoyaron, esto también es suyo.

A la Flia. Jorcin por bancarme todo este tiempo.

A la Flia. que uno elige "los Amigos", a toda la Flia. Espartana por aguantar mi deterioro físico, producto del tiempo transcurrido en esta larga carrera.

Muchas Gracias.

Diego

TABLA DE CONTENIDO

Depto.

<u>PÁGINA DE APROBACIÓN</u>	II
<u>AGRADECIMIENTOS</u>	III
<u>LISTAS DE CUADROS Y FIGURAS</u>	IV
1 <u>RESUMEN</u>	V
2 <u>SUMMARY</u>	VI
3 <u>INTRODUCCION</u>	1
3.1 Situación Carne aviar en Uruguay.....	1
3.2 El Mercado Mundial.....	1
3.3 La Producción Nacional.....	2
3.4 Destino de la producción.....	3
3.4.1 El Consumo Interno.....	3
3.4.2 Las Exportaciones.....	3
3.5 Inocuidad Alimentaria en Carne de pollo – Patógenos.....	4
3.6 Vida Útil de Carne y Productos Cárnicos de Pollo.....	5
3.6.1 Características del producto.....	6
3.6.2 Actividad de agua (aw).....	6
3.6.3 Potencial de óxido-reducción (Eh).....	6
3.6.4 pH.....	7
3.6.5 Necesidades nutritivas.....	8
3.6.6 Temperatura.....	8
3.7 Crecimiento Microbiano.....	8
3.8 Contaminación en el Proceso de Faena.....	10
4 <u>REVISION BIBLIOGRAFICA</u>	12
4.1 Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM).....	13
4.2 Coliformes y <i>E.coli</i> como indicadores de las condiciones higiénicas del proceso.....	14
4.2.1 Recuento de Coliformes.....	14
4.2.2 Bacterias entericas indicadoras.....	15
4.2.2.1 Taxonomía.....	15
4.2.2.2 <i>E.coli</i> como indicador de contaminación fecal.....	15
4.2.2.3 Recuento de <i>Escherichia coli</i>	16
4.2.2.4 Enfermedades causadas por <i>E.coli</i>	16
4.2.3 Procedencia de <i>E.coli</i>	18
4.2.4 Factores que influyen en el crecimiento y supervivencia de <i>E.coli</i>	18
4.2.4.1 Generalidades.....	18
4.2.4.2 Temperatura.....	19
4.2.4.3 pH, actividad agua y otros factores.....	20
4.2.4.4 Recuento de Coliformes.....	20
4.3 <i>Pseudomonas</i> psicrotrofas.....	21
4.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	22
4.4.1 Taxonomía.....	22
4.4.2 Síntomas.....	23
4.4.3 Patogenicidad.....	23
4.4.4 Recuento.....	24
4.4.5 Distribución en la naturaleza e importancia en los alimentos.....	25

4.4.6	Características del crecimiento y de la supervivencia.....	25
4.4.6.1	Efecto de la temperatura sobre la supervivencia durante el almacenamiento en congelación.....	25
4.4.6.2	Efecto de la temperatura (0-50°C) sobre el crecimiento y sobre la producción de enterotoxinas.....	25
4.4.6.3	Efecto de la temperatura (50-150°C) sobre la destrucción de las células y de las enterotoxinas.....	25
4.4.6.4	Efecto de la irradiación sobre <i>S.aureus</i> y sobre las enterotoxinas.....	26
4.4.6.5	Efecto de la actividad agua sobre el crecimiento y sobre la producción de enterotoxina.....	26
4.4.6.6	Efecto del pH sobre el crecimiento y sobre la producción de enterotoxina.....	26
4.4.6.7	Efecto de los gases sobre <i>S.aureus</i>	26
4.4.6.8	Factores críticos.....	26
5	<u>CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA</u>	28
6	<u>OBJETIVOS</u>	30
6.1	OBJETIVOS GENERAL.....	30
6.1.1	Objetivos Especificos.....	30
7	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	30
7.1	LOCALIZACIÓN.....	30
7.2	MUESTREO.....	30
7.3	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	30
7.3.1	Diluciones.....	31
7.4	INDICADORES ANALIZADOS.....	31
7.4.1	Recuento de Aeróbios Mesófilos.....	31
7.4.2	Coliformes totales.....	32
7.4.3	<i>Staphylococcus spp</i>	33
7.4.4	<i>Pseudomonas spp</i>	34
7.5	MATERIALES DE LABORATORIO.....	34
7.6	VALORES DE REFERENCIA.....	35
7.7	ANALISIS ESTADISTICO.....	35
8.	<u>RESULTADOS</u>	36
9.	<u>DISCUSIÓN</u>	38
10.	<u>CONCLUSIONES</u>	39
11.	<u>RECOMENDACIONES</u>	40
12.	<u>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</u>	41

LISTAS DE CUADROS Y FIGURAS

CUADROS

Cuadro I: Uruguay: Producción, exportaciones y consumo de carne aviar.....	3
Cuadro II: Principales microorganismos patógenos asociados a la carne de pollo....	5
Cuadro III: Carga microbiana según especies.....	8
Cuadro IV: Diferencias entre los géneros de la familia Enterobacteriaceae (a) en relación con su origen fecal o no fecal, su detección y su enteropatogenicidad por el hombre.....	16
Cuadro V: Características de la enfermedad relacionada con E.coli (adaptada de Doyle y Padhye, 1989).....	17
Cuadro VI: Temperatura óptima y límites de temperatura para el crecimiento de <i>E. coli</i> y <i>E. Coli O157: H7</i>	
Cuadro VII: Parámetros limitantes del crecimiento correspondientes a <i>E.coli</i> patógeno (adaptada del The International Commission on Microbiological Specification for Foods, 1996).....	20
Cuadro VIII: Composición PCA.....	31
Cuadro IX: Composición VRBA.....	32
Cuadro X: Composición Baird Parker.....	33
Cuadro XI: Composición Agar Cetrimida.....	34
CuadroXII: Resultados obtenidos y valores de referencia.....	36

FIGURAS

Figura I: Microorganismos alterantes de la carne de pollo almacenada en refrigeración.....	9
Figura II: Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM), coliformes, <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas spp</i>	37

1. RESUMEN

Para la evaluación de alimentos como un producto final han de tenerse en cuenta conceptos como la inocuidad alimentaria y la vida útil comercial. Ambos están estrechamente relacionados con la microbiología y determinarán la calidad de la carne consumida. Por tanto, se puede afirmar, que para asegurar la calidad microbiológica en la carne de pollo, debe realizarse un correcto control.

El proceso de industrialización del sector avícola que se produjo en los países desarrollados a partir de los años 60, y las importantes mejoras técnicas conseguidas, han permitido llegar a un grado de automatización en este sector difícilmente superable que hace posible que la producción llegue a unos rendimientos muy altos. Sin embargo, estas mejoras técnicas no se tradujeron en una mejora de la calidad microbiológica de la carne. Más bien, lejos de ser favorables desde el punto de vista higiénico, contribuyeron a aumentar aún más la carga microbiana de las canales de ave, ya de por sí importante al tratarse de animales que no se desuellan. En efecto, el hacinamiento de los animales en los sistemas intensivos de cría y la implantación de grandes plantas de sacrificio y procesado facilitan la difusión de los microorganismos, especialmente de bacterias enteropatógenas, de unos animales a otros y de unas canales a las siguientes, lo que influye negativamente en la calidad microbiológica final de la carne de ave.

Por tanto, la meta del sector avícola no es, o no debería ser, producir más, sino asegurar la calidad de los productos, y esto es especialmente aplicable a la calidad microbiológica. Cabe destacar que, microbiológicamente hablando, el músculo del animal "in vivo" es totalmente estéril, mientras que la carne comercial puede llegar a tener una concentración microbiana total en torno a un millón de bacterias por centímetro cuadrado o gramo. Por tanto, el conseguir una mejor calidad microbiana de la carne de pollo dependerá de la correcta implantación de Buenas Prácticas de Fabricación y Sistemas de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), a lo largo de toda la cadena de producción.

Visto que no se cuenta con valores a nivel nacional sobre la carga microbiana contenida en las canales de pollo distribuidas en el mercado, surge la necesidad de contar con dichos valores para poder adoptar medidas a fin de disminuir la misma, garantizando de esta forma una adecuada inocuidad alimentaria a la población.

2. SUMMARY

To evaluate food as a final product, concepts such as food safety and commercial life, must be taken into account. Both are closely related to microbiology and determine the quality of the consumed meat. Therefore, it can be said that to ensure the microbiological quality of chicken meat, it must be done a proper control. The industrialization of the poultry sector which occurred in developed countries from the 60's, and achieved significant technical improvements, have allowed us to reach an automation grade in this sector which is hardly surmountable and allows the production to reach very high yields. However, these technical improvements didn't translate itself into a microbiological improvement of meat quality. Rather, far from being favorable from the hygienic point of view, it contributed to further increase of microbial load of poultry carcasses, already important when dealing with animals that are not skinned. Indeed, overcrowding animals in intensive farming systems and the implementation of large slaughter plants and processing facilitates microorganisms spread, particularly bacterial pathogens, from some animals to another and from one channel to the next, which has negative influence on the final microbiological quality of poultry meat.

Therefore, the poultry sector goal isn't or shouldn't be to produce more, but to ensure product quality, and this is especially applicable to microbiological quality. Notably, in microbiological terms, the animal muscle "in vivo" is completely sterile, while commercial meat can have total microbial concentration around a million bacteria per square centimeter or gram. Therefore, reaching better chicken meat microbial quality depends on the correct implementation of Good Manufacturing Practices and Hazard Analysis and Critical Control Points Systems (HACCP) throughout the entire production chain.

Considering that there are not national level values contained in the microbial load on chicken carcasses distributed in the market, comes the need for these values to take steps to decrease it, thus ensuring adequate food safety to the public.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 Situación Carne aviar en Uruguay

En el 2010 el complejo avícola registró un nivel de producción muy similar al del año anterior, nivel que sigue representando un valor alto en términos históricos aunque inferior al de los países vecinos. El precio al público en moneda constante este año presentó un aumento relativamente importante, destacándose una evolución similar respecto a su principal producto sustituto como es la carne vacuna. El consumo interno, principal destino de la producción, se situó en el orden de los 19 kilos por habitante. Las exportaciones, lideradas exclusivamente por la empresa Tres Arroyos, volvieron nuevamente a aumentar, evidenciando la consolidación de una corriente que, aunque menor en volumen, refleja la potencial competitividad del sector en los mercados de destino (Errea, 2010).

También se produjo un hecho relevante en términos del escenario de políticas públicas en que se ha desempeñado este sector desde hace varios años, como lo fue el levantamiento parcial de la barrera sanitaria referida a la enfermedad de Newcastle. El volumen en cuestión es de muy pequeña significación en términos absolutos, y paralelamente el sector público a través del MGAP ha decidido adoptar medidas tendientes a fortalecer la competitividad genuina de la cadena, de cara a una probablemente creciente competencia por parte de los productos importados (Errea, 2010).

3.2 El Mercado Mundial

Según datos del USDA, la producción mundial en el año 2010 mostró una recuperación de alrededor del 3% respecto a la del año anterior, alcanzando un total de 73,5 millones de toneladas. En el correr del año 2009 la producción se ha mantenido prácticamente inalterada en relación a la alcanzada en 2008. La crisis financiera internacional del referido año provocó una retracción de la demanda mundial, donde los principales centros consumidores se localizan en USA, China, México y la UE. Dicha retracción determinó paralelamente una disminución de la oferta fundamentalmente en alguno de los principales países productores del mundo como son Brasil y USA (Errea, 2010).

En el 2010 una relativa dinamización de la demanda mundial, estimada en el orden del 4,5%, determinó que esta se ubicara en alrededor de las 65,1 millones de toneladas. Lo antedicho originó un nuevo incremento de las exportaciones mundiales, lideradas por USA y Brasil, que se estima se ubicarían en el orden de las 8,3 millones de toneladas (Errea, 2010).

En síntesis, en el 2010 se habría retomado el sendero de crecimiento sostenido tanto a nivel de las exportaciones como de la producción que ha tenido la producción de carne aviar y que la ha llevado a posicionarse como el producto cárnico más consumido en el mundo (Errea, 2010).

Todos los análisis existentes a nivel mundial estiman que esa tendencia se mantendría en los próximos años, con el único interrogante proveniente de la

evolución que pueda presentar el precio del maíz, principal insumo en la producción avícola y determinante central de su costo de producción (Errea, 2010).

3.3 La Producción Nacional

La producción nacional se habría mantenido en niveles relativamente similares a los alcanzados el año 2009. Luego del significativo aumento de la producción acaecido en 2008, en el año 2009 la misma presentó un descenso de cierta consideración respecto al año anterior, situándose en alrededor de 66,3 miles de toneladas, lo que implicó una caída de algo más del 10% en relación a la alcanzada en 2008. La caída señalada de la producción se debió a que las empresas más importantes del sector tomaron la decisión ese año de reducir su oferta como forma de contrarrestar la caída de sus precios de venta en el mercado interno (Errea, 2010).

En el 2010 la producción tuvo un crecimiento de cierta significación los primeros meses, estimulada en parte por un aumento relativo de los precios de los bienes sustitutos, en particular la carne vacuna, para luego presentar una cierta retracción influida por el aumento del precio del maíz, determinante principal de los costos de producción de este producto (Errea, 2010).

Las carencias existentes todavía en términos de registros relativos a incubadurías y plantas de faena impiden contar con un dato totalmente preciso de la producción alcanzada. No obstante ello, la encuesta que lleva a cabo DIEA a los faconeros de pollos aporta un base estadísticamente confiable a los efectos de realizar una estimación lo más rigurosa posible. A partir de los datos resultantes de la señalada fuente, se estima que la producción de pollos parrilleros no presentaría un cambio sustancial respecto al año 2009 y que se situaría en el 2010 en el orden de las 69.200 toneladas, o sea un incremento de aproximadamente el 4% en relación a 2009. Tres Arroyos continúa siendo el principal productor de carne de pollo en el país, concentrando en el momento actual cerca de la tercera parte de la producción nacional. Un total de 5 empresas, incluida la antedicha, concentra el 80% de la producción. (Errea, 2010).

Cuadro I: Uruguay: Producción, exportaciones y consumo de carne aviar

Años	Producción (t)	Exportaciones (t)	Consumo global (t)	Consumo per cápita (kg)	Var. anual de prod (%)
2002	45.181	919	44.262	13,2	-17,8
2003	30.686	7	30.679	9,1	-32,1
2004	40.997	23	40.974	12,2	33,6
2005	51.762	201	51.561	15,6	26,3
2006	60.387	1.429	58.958	17,7	16,7
2007	50.121	1.361	48.760	14,7	-17
2008	75.300	5.072	70.228	21,1	50.2
2009	66.300	5.600	60.700	18,2	-12
2010 (1)	69.200	7.100	62.100	18.5	4,3

Fuente: en base a datos del MGAP; URUNET e informantes calificados.

(1) 2010: estimado

3.4 DESTINO DE LA PRODUCCIÓN

3.4.1. El Consumo Interno

El consumo interno de carne de ave sigue constituyendo el principal destino de la producción nacional (90%). Este consumo acompaña básicamente la evolución de la producción interna, y se estima que se situaría este año en el orden de los 19 kilos por habitante. Ese valor es prácticamente idéntico al del año anterior y si bien es el segundo valor más alto de toda la década está por debajo del récord alcanzado dos años atrás; y aún se encuentra muy por debajo de los registros de nuestros vecinos Brasil y Argentina. El precio del pollo es el principal fundamento del comportamiento de su consumo, y su relativo abaratamiento en parte del año respecto a la carne vacuna, habría resultado fundamental para que su nivel se haya mantenido constante (Errea, 2010).

3.4.2. Las Exportaciones

Las exportaciones volvieron a presentar un nuevo incremento, de mayor cuantía respecto a lo alcanzado el pasado año y si bien representan aún un porcentaje pequeño del destino de la producción nacional, parece consolidarse una tendencia sostenida en tal sentido, en una demostración de que el sector es competitivo en determinados mercados internacionales.(Errea, 2010)

El ritmo de las exportaciones fue relativamente estable en el correr del año, con precios internacionales que se mantuvieron valores similares a los registrados en el segundo semestre del 2009, donde los mismos se habían recuperado de la importante caída experimentada en los meses anteriores como derivación de la fuerte crisis internacional del año 2008 (Errea, 2010).

Respecto al volumen, hasta mediados de noviembre de 2010 el volumen exportado se ubicaba en 6.467 toneladas. En base a esa información y de acuerdo a los negocios concertados hasta fin del pasado año, se estima que las exportaciones

totales para el 2010 se ubicarán en el entorno de las 7.100 toneladas, o sea un 26% por encima de lo exportado el año 2009 (Errea, 2010).

Este proceso de aumento de las exportaciones sigue siendo liderado en forma casi exclusiva por la empresa Tres Arroyos, firma de origen argentino que registra una larga e importante trayectoria exportadora. Esta situación se da no solo por el propio incremento de las ventas de esta empresa sino también porque las otras firmas no han diseñado estrategias para incursionar en el mercado internacional (Errea, 2010).

En lo que refiere a los destinos, el 2010 Arabia Saudita se constituyó en el principal cliente, comprando el 40% del total exportado. En total se exportó a 19 países, siendo otros destinos de importancia Qatar con el 22%, Yemen del Norte con el 17% y Angola con el 8% (Errea, 2010).

3.5. Inocuidad Alimentaria en Carne de Pollo – Patógenos

Los problemas de inocuidad alimentaria siguen existiendo a nivel mundial y afectan no sólo a los productos cárnicos sino a toda una variedad de alimentos. Datos aproximados de EEUU, donde la etiología de las toxiinfecciones alimentarias está profundamente estudiada, demuestran que las infecciones de origen alimentario causan anualmente 76 millones de enfermos, con 325.000 hospitalizaciones y 5.000 muertos anuales, se asume que entre un 15-20% de las toxiinfecciones alimentarias están directamente ligadas con el consumo de carne de pollo y/o sus derivados (Moreno, 2005).

En Uruguay el agente responsable más frecuente en los brotes de origen bacteriano es *Salmonella* spp. (57%), siguiendo en orden de frecuencia, en un 21% de los brotes se detectó presencia de coliformes en alimento sin haber podido identificarse un patógeno específico. Luego *Staphylococcus aureus* (13%), y el restante 9% corresponde a *Clostridium perfringens* (4 brotes), *Shigella* spp. (3), *Bacillus cereus* (3), y botulismo (1 brote) responsable de la única defunción registrada en este período (Acuña, 2002).

La carne de aves en general, y la de pollo en particular, es un vehículo muy importante de microorganismos patógenos para el hombre, principalmente: *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* y *Bacillus cereus*. Los síntomas de las infecciones producidas por estas bacterias y sus periodos de incubación se muestran el siguiente cuadro (Moreno, 2005).

Cuadro II: Principales microorganismos patógenos asociados a la carne de pollo.

Agente	Período de incubación	Síntomas
<i>Salmonella</i>	6-72h (habitualmente 12-36)	Diarrea, dolor abdominal, náuseas, a veces vómitos, fiebre
<i>Campylobacter spp.</i>	1-10 días (habitualmente 3-5 días)	Dolor abdominal, diarrea profusa, malestar, dolor de cabeza, fiebre
<i>Staphylococcus aureus</i>	1-6 h	Vómitos, postración de corta duración
<i>Clostridium perfringens</i>	6-24 h (habitualmente 10-12h)	Cólicos y diarreas de corta duración
<i>Listeria monocytogenes</i>	3-21 días	Síntomas gripales, meningitis, abortos, partos prematuros
<i>Yersinia enterocolitica</i>	3-7 días	Diarrea, dolor intenso, fiebre baja
<i>Bacillus cereus</i>	1-5 h	Vómitos, dolor abdominal, diarrea

Fuente: Moreno, 2005

3.6. Vida Útil de carne y productos cárnicos de pollo

La vida útil comercial, o fecha de caducidad del producto, es una de las principales limitaciones que tienen los productos cárnicos de pollo. Esto es así, dado que el final de la vida útil es una consecuencia directa del crecimiento microbiano y/o la oxidación lipídica de las grasas. Por tanto, la vida comercial o fecha de caducidad de un producto no será sino la combinación de:

- Características del producto o matriz. Así su pH final, actividad de agua, composición (cantidad y tipo de grasa), forma y tamaño determinarán la velocidad del crecimiento microbiano y la oxidación lipídica.
- Carga microbiana inicial. Consecuencia de las buenas prácticas de fabricación y procesado existentes en la industria.
- Sistema de conservación empleado: temperatura de almacenamiento, tipo de atmósfera utilizada en el embalaje (aerobia vs modificada) y la utilización o no de conservadores (antioxidantes, antimicrobianos y antifúngicos) (Moreno, 2005).

3.6.1. Características del producto

1.0

Entre las condiciones que favorecen la proliferación microbiana en la carne y los productos cárnicos de ave están incluidos los factores de crecimiento o condiciones favorables para que los microorganismos presentes en ellos, aumenten su número y por consiguiente se incremente la población microbiana. Cuando se presenta alguno de los factores de riesgo y los productos se contaminan, comienzan a jugar un papel importantísimo las condiciones y características de la carne y se estimula el crecimiento y multiplicación de los microorganismos infectantes (Sofos, 1994).

El caldo de carne se ha reconocido tradicionalmente como un excelente medio de cultivo, el músculo contiene los nutrientes necesarios para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos, sin embargo no es un buen medio nutritivo, inmediatamente después de su obtención. En efecto, sus nutrientes no son directamente accesibles por las barreras que es necesario penetrar previamente (pared celular, tejido conjuntivo, aponeurosis, grasa de cobertura, entre otros). La penetración de los microorganismos en la carne, en las canales o en piezas gruesas es lenta; por el contrario, en carnes picada es bastante fácil (Sofos, 1994).

Los factores que influyen en el crecimiento de los microorganismos en las carnes son la actividad de agua (a_w), el potencial de óxido-reducción (Eh), el pH, las necesidades nutritivas y la temperatura y en productos cárnicos, también los aditivos utilizados (Dooley, 2000).

3.6.2. Actividad de agua (a_w):

La A_w mide la disponibilidad de agua del medio donde se encuentran los microorganismos, lo que es igual a la relación entre la presión de vapor de agua de la solución y la presión de vapor de agua del agua pura. El a_w de la carne fresca es de 0.98 - 0.99, cifras que son sumamente favorables para la multiplicación de todas las especies microbianas. Las variaciones en el a_w de la superficie de la carne (relacionada con la humedad relativa) tiene grandes repercusiones sobre el crecimiento microbiano superficial; todo descenso en el a_w , supone una desecación que se opone a la multiplicación microbiana. Podría pensarse entonces que debería descartarse la conservación de la carne en ambientes húmedos, sin embargo, el ambiente seco asociado con el frío, que provoca una buena inhibición microbiana, trae consigo problemas como pérdida de masa y por consiguiente pérdidas económicas (Sofos, 1994).

3.6.3. Potencial de óxido-reducción (Eh):

Inmediatamente después de la muerte del animal, el músculo todavía contiene en profundidad reservas de oxígeno, que hacen que el Eh sea positivo y elevado, lo que favorece el crecimiento de gérmenes aeróbicos (requieren de la presencia de oxígeno para desarrollarse); los principales microorganismos de este tipo que contaminan la carne son los pertenecientes a los géneros *Pseudomonas* y *Micrococcus*. Luego las reservas de O_2 se agotan por falta de renovación por la sangre, el Eh profundo disminuye rápidamente y se hace negativo. Las condiciones reductoras que se crean, son propicias para el desarrollo de gérmenes anaerobios

de la putrefacción, los más representativos de este tipo son los del género *Clostridium*. Existen otros microorganismos denominados anaerobios facultativos que pueden desarrollarse en presencia o ausencia de oxígeno y los más representativos en la carne y los productos cárnicos son los pertenecientes a los géneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* y *Coliformes*. Los géneros *Streptococcus* y *Pediococcus* son microaerobios y también es posible encontrarlos como contaminantes de la carne (Sofos, 1994).

3.6.4. pH :

Luego de que el pollo es sacrificado se desencadenan una serie de acontecimientos que finalizarán con la instauración del "rigor mortis" y posterior maduración de la carne, así:

- Interrupción del riego sanguíneo y, por tanto, del aporte de oxígeno al músculo. A su vez el músculo trata de mantener su temperatura y la contracción muscular normal consumiendo ATP.
- Anaerobiosis y obtención de ATP vía glucólisis, descenso del pH por acumulación de ácido láctico. El valor normal de pH "in vivo" es cercano a la neutralidad (de 7.0 a 7.2), en las 3-4 primeras horas desciende a cifras de: 6.15 (pechuga) y 6.40 (muslo), llegando a valores finales de: 5.70 (pechuga) y 5.90 (muslo) a las 24 horas post-mortem.
- El descenso del pH, dado que se acerca al punto isoelectrico de las proteínas (pH = 5.1-5.5), inactivará la enzima responsable de la glucólisis.
- El descenso de niveles de ATP comienza a impedir la relajación muscular, debido al aumento de Ca^{2+} en el retículo sarcoplásmico, la temperatura baja limita además la eficacia de la bomba de Ca^{2+} , como consecuencia las uniones de actina-miosina se establecen instaurándose el estado de "rigor mortis".
- El descenso de pH produce en último término la liberación de enzimas lisosómicas, fundamentalmente proteolíticas, que actuarán en la maduración de la carne.

La rigidez cadavérica o "rigor mortis" se establece muy rápido en las aves como promedio en 1-2 horas, pero puede observarse entre 10 minutos y 4 horas, y es máxima entre 2 y 8 horas post-mortem. La mayor velocidad del proceso glucolítico y la rapidez con la que se enfrían las canales, dado su pequeño tamaño, favorece el rápido acortamiento de las fibras musculares. Hacia las 8 horas post-mortem el rigor va desapareciendo a causa de los fenómenos proteolíticos, comenzando así el proceso de maduración de la carne (Moreno, 2005).

Los microorganismos son extremadamente sensibles a las variaciones del pH y generalmente cuando este es bajo, suele producirse un descenso en la velocidad del crecimiento microbiano. Las más afectadas son las bacterias, luego las levaduras y los más resistentes a pH bajos son los mohos. Teniendo en cuenta lo anterior, significa que las carnes con valores de pH elevados están más expuestas a las acciones microbianas, sobre todo a la putrefacción. La mayoría de las bacterias crecen a valores de pH entre 5 y 8 (Sofos, 1994).

3.6.5.Necesidades nutritivas:

Después de haber transcurrido en el músculo los procesos bioquímicos posteriores a su obtención, este aporta los nutrientes necesarios para el crecimiento y desarrollo de la mayoría de los microorganismos. Satisface desde las necesidades tan simples de la *Escherichia coli*, hasta los complejos requerimientos nutricionales del *Enterococcus faecium* (Moreno, 2005).

3.6.6.Temperatura:

La temperatura del músculo inmediatamente después del sacrificio es relativamente alta (aproximadamente 40,6°C), temperatura ideal para el desarrollo de las bacterias mesófilas, entre 25°C y 40°C, sin embargo es posible encontrarlas hasta 10°C (Quiles, 2005).

Generalmente, una vez obtenidas las canales estas son refrigeradas y en los procesos posteriores de corte, almacenamiento y comercialización se continua con la cadena de frío, es común encontrar microorganismos contaminantes psicrófilos (requieren temperaturas entre 10 y 30°C como temperatura óptima, pero pueden crecer más lentamente hasta los 0°C), los microorganismos pertenecientes a los géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter* y *Flavobacterium* son los que frecuentemente se encuentran en carnes frescas sometidas a temperaturas de refrigeración (Sofos, 1994).

3.7. Crecimiento Microbiano

Las canales de pollo presentan unos índices de carga microbiana postsacrificio muy superiores al de otras especies no avícolas. Esto es así, dado que la piel sin ningún tipo de tratamiento agresivo, y por tanto con su flora microbiana, llega al producto final. Por el contrario en porcino la piel sufre un fuerte calentamiento y en los bovinos se elimina (Moreno, 2005).

Cuadro III: Carga microbiana según especies.

Especie	Microorganismos N° / gramo de carne		
	Aerobios mesófilos	Psicotróficas	E. Coli
Pollo	1 * 10 ⁶	1*10 ⁵	1*10 ³
Pescado	1 * 10 ⁵	--	10
Porcina	1 * 10 ⁴	1*10 ³	--

Fuente: Moreno, 2005

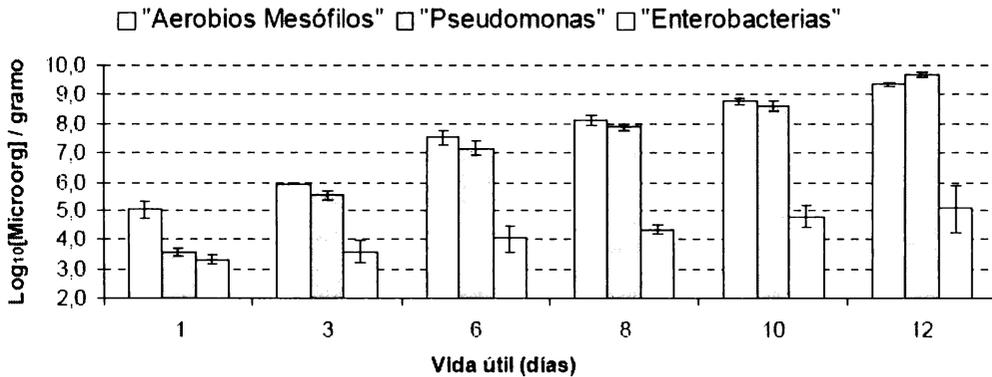
Existe una serie de grupos microbianos cuya evaluación en la superficie de las canales puede indicarnos la calidad microbiológica, el grado de higiene en los procesos y el mantenimiento o no del frío, así como ayudarnos a predecir la posible vida comercial del producto. Algunos de estos indicadores son:

- Los aerobios mesófilos han sido utilizados como criterio para predecir la vida media. También pueden ser indicadores de un inadecuado procesado (Moreno, 2005).
- *Pseudomonas* es el genero de microorganismos principalmente responsables de la alteración superficial de la carne de pollo refrigerada en atmósferas aerobias (son psicrótrofos). Con una densidad de entre 10^6 y 10^8 por cm^2 se aprecia un olor anormal y se forma viscosidad en la superficie de la canal (Moreno, 2005).
- La mayor parte de las enterobacterias presentes en la superficie de las canales procede de contaminación de origen fecal y su presencia en niveles elevados puede indicar una manipulación poco higiénica y/o un almacenamiento inadecuado (Moreno, 2005).
- La determinación de coliformes, entre ellos *E.coli*, en las canales de pollo tiene únicamente el significado de indicación de la calidad higiénica del producto (Moreno, 2005).
- En el caso del pollo de carne en condiciones aerobias y almacenado en refrigeración, son *Pseudomonas* (psicrotrofos) los microorganismos indicadores y responsables de su deterioro, produciéndose malos olores a niveles de 10^7 pseudomonas/ cm^2 y aparición de sustancias limosas en superficie y lipólisis de la fracción grasa cuando se alcanza 10^8 *Pseudomonas*/ cm^2 (Moreno, 2005).

Esta evolución de la *Pseudomonas* en la carne de pollo puede observarse en el gráfico adjunto:

Figura I:

Microorganismos alterantes de la carne de pollo almacenada en refrigeración



Fuente: Moreno, 2005

3.8. Contaminación en el Proceso de Faena

La carne de pollo tiene un alto riesgo de contaminación durante su proceso de producción. La Temperatura de almacenamiento, tipo de empaquetando, y tipos y números de bacterias psicotrofas son los factores que determinan la alteración de la carne de aves de corral. Las bacterias más comunes que producen alteración de la carne de pollo son: *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, y *Brochothrix thermosphacta* (Tuncer y col, 2008).

De acuerdo con el Reglamento Bromatológico Nacional las canales deberán ser presentadas al comercio despojadas de: plumas, cabeza, cuello, tarsos y vísceras toraco-abdominales, incluyendo traquea, esófago, buche, pulmones, sacos aéreos, riñones, intestinos, bazo, bolsa de Fabricio y órganos sexuales (Reglamento Bromatológico Nacional, 2005).

De acuerdo con esto se han identificado numerosos puntos críticos en el procesado que, controlados adecuadamente, reducirían el nivel de contaminación microbiológica del producto final.

- En la etapa del sacrificio microorganismos entéricos contaminan la superficie del cuerpo del animal y en el desangrado la hoja del cuchillo o aparato utilizado, pueden diseminar las bacterias de unos animales a otros (Salmonellas de un ave infectada podrían difundirse a muchas canales mediante la contaminación de las diversas piezas del equipo que contactan con cada canal) (Ricaurte, 2005; Morshedy, 2009)
- El escaldado produce una dilatación de los folículos que facilita la posterior eliminación de las plumas. Durante esta operación, cada ave transfiere al agua millones de bacterias procedentes de la piel, patas, plumas y contenido intestinal. El escaldado por inmersión puede causar la difusión de microorganismos de un ave a otra. La contaminación procedente de la superficie externa y de los conductos intestinal y respiratorio, pasa de forma continuada hacia el agua de escaldado, lo que provoca esta difusión. Una renovación del agua de escaldado y un aprovechamiento de los efectos letales de temperaturas altas (unos 60° para la inactivación de microorganismos en forma vegetativa) son parámetros que hay que comprobar (Ricaurte, 2005; Morshedy, 2009; Cason, 2006).
- El desplumado es otro punto de contaminación cruzada, tanto por microorganismos fecales como procedentes de la piel, plumas y suelo (*Campylobacter spp*, *E.coli*, *Salmonela spp.*, etc.). A continuación habría que examinarlas para descubrir si hay evidencias de material fecal u otra suciedad que fuere un contaminante de la carne (Ricaurte, 2005; Morshedy, 2009).
- La evisceración suele originar la contaminación posterior de las canales, principalmente con microorganismos intestinales. La habilidad del operario y el empleo de técnicas correctas son factores importantes, al igual que la rapidez de la operación. Inmediatamente se deben lavar las canales con el fin de reducir la contaminación que tiene lugar durante el proceso. Es necesario observar que la superficie de la canal y la cavidad corporal están lavadas completamente (Ricaurte, 2005; Morshedy, 2009).

- La refrigeración es necesaria para retrasar la multiplicación de las bacterias alterantes y para prevenir la multiplicación de las patógenas. El método de enfriamiento por inmersión en agua, con o sin hielo, es probable que difunda contaminantes, por ello es favorable hacerlo con agua clorada (hasta 50 ppm de cloro residual total) circulando continuamente en contracorriente para reducir la contaminación cruzada. Es necesario la determinación de la temperatura y los niveles de cloro del agua. Estudios indican que la adición de cloro a una concentración de 25 ppm en el chiller ayuda a la disminución de la contaminación de las carcasas. (Ricaurte, 2005; Northcutt y col, 2006)

De acuerdo con lo dispuesto por el Codex Alimentarius las aves de corral y las aves de caza de cría sólo podrán ser limpiadas para eliminar el polvo, las plumas y otros contaminantes después del desplume mediante la aplicación de agua potable. El lavado de los cuerpos de los animales en múltiples etapas del proceso de faenado y a la mayor brevedad posible después de cada etapa contaminante reduce la adherencia de bacterias a la piel, lo cual puede disminuir la contaminación general de las canales (El lavado después de la evisceración e inspección *post-mortem* también es necesario por motivos tecnológicos, ya que es el único método disponible para limpiar sistemáticamente las canales antes de comenzar el proceso de enfriamiento). El lavado podrá realizarse por diversos métodos, como por ejemplo pulverización o inmersión (FAO, OMS, 2005).

Después del procesado, el alimento puede contener algunas de las muchas especies de microorganismos en su superficie. Sin embargo, dado que este tipo de carne se conserva refrigerada, son los microorganismos psicrótrofos los predominantes y causantes del deterioro. La utilización de bajas temperaturas para el mantenimiento, distribución y exposición de la carne de ave fresca es el factor más importante que afecta a la vida útil de la misma. Así ésta será mayor cuanto menor sea la temperatura utilizada. La mayor parte de los gérmenes patógenos no pueden multiplicarse por debajo de 6°C, aunque las bacterias psicrótrofas alterantes pueden multiplicarse hasta por debajo de 0°C, si bien a -2°C estas presentan períodos de latencias prolongados y tiempos de generación mayores. Por tanto, para aumentar la vida útil los productos deben almacenarse por debajo de 3°C o, si es posible, a -2°C (a temperaturas inferiores el producto congelará) (Campos, 2004).

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La inocuidad de los alimentos se asegura principalmente mediante el control en el punto de origen, el control de la planificación y formulación del producto y la aplicación de buenas prácticas de higiene durante la producción, la elaboración (incluido el etiquetado), la manipulación, la distribución, el almacenamiento, la venta, la preparación y el uso, junto con la aplicación del Sistema de HACCP. Este enfoque preventivo ofrece un control mayor del que se obtiene con los ensayos microbiológicos, habida cuenta de que la eficacia del ensayo microbiológico para evaluar la inocuidad de los alimentos es limitada (FAO, OMS, 1997).

Los criterios microbiológicos deben establecerse de conformidad con estos principios y basarse en análisis y asesoramiento científicos y, cuando se disponga de datos suficientes, en un análisis de riesgos adecuado para el producto alimenticio y su uso. Además, tienen que elaborarse de forma transparente, cumpliendo con los requisitos necesarios para un comercio equitativo, y revisarse periódicamente para comprobar su utilidad frente a nuevos gémenes patógenos, tecnología en evolución y nuevos conocimientos científicos (FAO, OMS, 1997).

El criterio microbiológico para un alimento define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basada en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, incluidos parásitos, y/o en la cantidad de sus toxinas/metabolitos, por unidad o unidades de masa, volumen, superficie o lote (FAO, OMS, 1997).

Las pruebas microbiológicas efectuadas en puntos específicos de la cadena alimentaria son un mecanismo importante para verificar un enfoque de la inocuidad de los alimentos basado en el análisis de riesgos. La especificación de los resultados microbiológicos referentes a la inocuidad de los alimentos permite establecer niveles adecuados de protección de los consumidores al tiempo que proporciona a las empresas la máxima flexibilidad en cuanto a los sistemas específicos de control del proceso utilizados (FAO, OMS, 2005).

La verificación microbiológica del control del proceso aplicado a la carne mediante pruebas microbiológicas permite:

- evaluar la idoneidad y eficacia del control de proceso realizado en el establecimiento con relación a la contaminación fecal y de otro tipo;
- garantizar el nivel de control de los peligros especificados que tienen importancia para la salud pública;
- facilitar la elaboración de criterios en una etapa o varias etapas del proceso que permitan alcanzar los objetivos de rendimiento o los criterios de rendimiento microbiológicos;
- identificar la necesidad de revisar y reformular los planes de HACCP;
- establecer una comparación objetiva entre los resultados de los diferentes sistemas de control del proceso en diferentes situaciones;
- obtener garantías de las autoridades competentes (FAO, OMS, 2005).

En el caso de microorganismos indicadores, como por ejemplo *Escherichia coli* genérica, las enterobacterias y los recuentos totales de organismos viables (recuentos de microorganismos aerobios en placa), la presencia y/o la concentración

de estos organismos indicadores deberá reflejar estados o condiciones que indiquen la existencia o inexistencia de un control del proceso. En el caso de peligros específicos, la prevalencia reflejará generalmente la presencia de peligros antes de la matanza y en etapas específicas de la elaboración de los productos (FAO, OMS^b, 2009).

4.1- Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM)

La mayoría de los alimentos Industrializados deben ser considerados como inadecuados para el consumo cuando contienen un gran número de microorganismos, aun cuando estos microorganismos no sean conocidos como patógenos y no hayan alterado de forma apreciable los caracteres sensoriales del alimento. Dentro de las razones para tal afirmación se destaca:

1- Recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario, mientras que en los productos perecederos pueden indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento. La presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que pueden haberse dado condiciones favorables a la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal (Periago, 2011).

2- Algunas cepas de bacterias mesófilas comunes, no generalmente consideradas como agentes de enfermedades transmitidas por alimentos (por ejemplo *Proteus spp.*, *Enterococcus* y *Pseudomonas* mesófilas) han sido señaladas como causa de enfermedad cuando existía un número elevado de células viables en los alimentos. Sin embargo, los datos que se cuenta acerca de la patogenicidad de estas cepas son conflictivos (Periago, 2011).

3- Todas las bacterias patógenas conocidas vehiculizadas por los alimentos son mesófilas y en algunos casos contribuyen con su presencia a los recuentos en placa encontrados (Periago, 2011).

4- Cuando la alteración de los alimentos es debida al desarrollo en ellos de microorganismos, la causa mas frecuente de alteración, deben esperarse en los mismos recuentos elevados. Los niveles de población precisos para producir modificaciones sensoriales ostensibles varían ampliamente según el tipo de alimento y, de modo particular, la clase de microorganismo. En el momento en que la descomposición puede ser detectada por el olor, el gusto o el aspecto, la mayoría de los alimentos contienen más de 10⁶ microorganismos por gramo (Periago, 2011).

Las bacterias aerobias mesófilas, como grupo (es decir las que crecen en placa agar a 30-37°C) pueden ser consideradas generalmente como organismos indicadores de vida útil del producto (Periago, 2011).

El recuento de aerobios mesófilos en la carne de pollo se utiliza para monitorear la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura. El recuento refleja: contenido microbiano de materiales crudos e ingredientes, la eficiencia del procedimiento de elaboración / proceso, la condición de higiene del equipo y utensilios y la relación tiempo- temperatura de almacenamiento y distribución. Alimentos perecederos manipulados correctamente pueden desarrollar RAM elevados y perder calidad si son almacenados por un período de tiempo prolongado. En este caso, el RAM no se

encontraría elevado por la condición de higiene del producto, sino por la vida útil del mismo. Por ello es que la utilidad del indicador depende de la historia del producto y el momento de la toma de muestra (ICMSF, 1991).

En el uso o la interpretación del recuento de aerobios mesófilos hay ciertos factores que deben ser tenidos en cuenta:

- este recuento es sólo de células bacterianas vivas. Los procedimientos que sufre el alimento en su elaboración, por ejemplo proceso térmico, pueden enmascarar productos con altos recuentos o condiciones deficientes de higiene. Además, el almacenamiento prolongado en congelación o con pH bajo resulta en la disminución del recuento,
- este recuento no diferencia tipos de bacterias (ANMTM, 2005).

4.2. Coliformes y *E.coli* como indicadores de las condiciones higiénicas del proceso

4.2.1. Recuento de Coliformes:

El término "coliformes fecales" ha surgido como un intento de encontrar métodos rápidos y fiables para establecer la presencia de *E.coli* y variantes estrechamente relacionadas sin necesidad de purificar los cultivos obtenidos en las pruebas para coliformes o de aplicar las relativamente costosas pruebas confirmatorias. Los coliformes fecales comprenden un grupo de microorganismos seleccionados por incubación de los inóculos procedentes de un caldo de enriquecimiento de coliformes a temperaturas superiores a las normales, 44-45°C dependiendo del método. (Bell, 2000).

La presencia de bacterias coliformes en los alimentos no significa necesariamente que hubo una contaminación fecal o que hay patógenos entéricos presentes. Las bacterias coliformes son particularmente útiles como componentes de criterios microbiológicos para indicar contaminación postproceso térmico (ANMTM, 2005).

Algunos coliformes (*E. coli*) son comunes en las heces del hombre y otros animales, pero otros (*Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Erwinia*) comúnmente se encuentran en el suelo, agua y semillas. Generalmente, en la leche cruda, vegetales, carne, aves y otros alimentos crudos se encuentran recuentos bajos de bacterias coliformes naturalmente por lo que presentan poco o ningún valor para el monitoreo de los mismos (ANMTM, 2005).

Estos organismos se eliminan fácilmente por tratamiento térmico, por lo cual su presencia en alimentos sometidos al calor sugiere una contaminación posterior al tratamiento térmico o que éste ha sido deficiente. Esto debería generar la determinación del punto del proceso donde se produjo la contaminación. Si se obtiene un recuento elevado en alimentos que han sufrido un proceso térmico, debe considerarse que existieron fallas (ausencia o deficiencia) en la refrigeración post-cocción. Los coliformes se estresan subletalmente por congelación, por lo que el recuento de coliformes en alimentos congelados debe ser interpretado con cuidado (ANMTM, 2005).

El uso del recuento de coliformes como indicador requiere un conocimiento amplio del proceso que el alimento ha sufrido (producción, procesamiento, distribución, etc.) y del efecto que él ha tenido en las bacterias coliformes (Jay, 2005).

4.2.2. Bacterias entéricas indicadoras

4.2.2.1. Taxonomía

El género *Escherichia* fue definido en la obra de Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity de Wilson y Miles como organismos móviles o inmóviles que se ajustan a la definición de enterobacteriae siguiente: bacilos asporogénos Gram negativos, con frecuencia móviles, con flagelos peritricos. Fácilmente cultivables en los medios ordinarios de laboratorio. Aeróbicos y facultativamente anaeróbicos. Todas las especies fermentan la glucosa con formación de ácido o de ácido y gas, tanto en aerobiosis como anaerobiosis. Todos reducen los nitratos a nitritos, oxidasa negativos, catalasa positivos (Bell, 2000).

4.2.2.2. *E.coli* como indicador de contaminación fecal

Escherichia coli es una bacteria cuyo hábitat natural es el tracto entérico del hombre y de los animales. Por ello, la presencia de este microorganismo en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal. *E.coli* es el indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos en el agua y alimentos. *E.coli* genérico ha sido recomendado por el USDA como un indicador fecal para verificar la adecuada calidad del proceso de faena en plantas de faena (Bell, 2000).

La enumeración de *E.coli* en el agua constituye una cuantía de la contaminación de esta, mientras que los niveles detectados en los alimentos pueden estar influenciados por otros factores, tales como la multiplicación del microorganismo, su muerte o inactivación o su adherencia a las partículas del alimento. Con todo, cifras sustanciales de *E.coli* en un alimento sugieren una falta general de limpieza en el manejo del mismo y un almacenamiento inadecuado. La presencia de *E.coli* en un alimento no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente (Bell, 2000).

Una práctica común es utilizar las pruebas para coliformes, que incluyen *E.coli*, en los ensayos de "screening" o preliminares. Si de estas pruebas iniciales se deduce la posibilidad de contaminación fecal, los coliformes u otras enterobacterias se someten a posteriores estudios para determinar si entre ellos está presente *E.coli* (Bell, 2000).

El término habitual coliformes comprende *E.coli* y diversas especies pertenecientes a otros géneros de la familia Enterobacteriaceae. La Tabla siguiente resume los géneros detectados y no detectados en las pruebas para coliformes, sus hábitats fecales o no fecales y su enteropatogenicidad potencial para el hombre (Bell, 2000).

Cuadro IV: Diferencias entre los géneros de la familia Enterobacteriaceae (a) en relación con su origen fecal o no fecal, su detección y su enteropatogenicidad por el hombre

Genero	Predominantemente de origen fecal	Generalmente detectado en las pruebas para coliformes	Típicamente enteropatogeno para el hombre
Escherichia	Si	Si	No f
Edwardsiella	Si	No	No f
Citrobacter	No b	Si c	No
Salmonella	Si	No	Si
Shigella	Si	No	Si
Klebsiella	No b	Si	No f
Enterobacter	No b	Si	No
Hafnia	No b	No d	No
Serratia	No	No	No
Proteus	No b	No	No f
Yersinia	Si	No	No f
Erwinia	No	No e	No

a Basado en el Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed.(Buchanan and Gibbons, 1974)

b Algunas cepas habitan en el tracto intestinal, pero proliferan también en otros ambientes naturales.

c Excepto cepas fermentadoras de la lactosa.

d Excepto cepas ocasionales.

e excepto cepas que se han adaptado a un crecimiento rápido a temperaturas próximas a 37°C.

f Algunos serotipos contienen cepas enteropatogenas.

4.2.2.3. Recuento de *Escherichia coli*

Los criterios microbiológicos que incluyen *E. coli* son de utilidad en casos en que se desea determinar contaminación fecal. La contaminación de un alimento con *E. coli* implica el riesgo de que puedan encontrarse en el mismo patógenos entéricos que constituyan un riesgo para la salud. Sin embargo, la ausencia de *E. coli* no asegura la ausencia de patógenos entéricos (Bell, 2000).

E. coli se puede eliminar fácilmente mediante procesos térmicos, por consiguiente, la presencia de la misma en un alimento sometido a temperaturas elevadas significa un proceso deficiente o, lo que es más común, una contaminación posterior al proceso atribuible al equipo, manipuladores o contaminación cruzada. Sin embargo, si el objetivo del análisis es controlar la contaminación post tratamiento térmico, los organismos seleccionados deberían ser las bacterias coliformes en lugar de *E. Coli* (Bell, 2000).

4.2.2.4. Enfermedades causadas por *E.coli*

E.coli es habitualmente un representante inofensivo de la microflora comensal normal de la porción distal (final o terminal) del tracto intestinal de las personas y de los animales de sangre caliente. Aunque la mayor parte de las cepas de *E.coli* no son patógenas, la especie contiene cepas que son capaces de causar varios tipos diferente de enfermedad, algunos mortales, y se sabe que algunas de estas cepas son transmitidas por alimentos. La siguiente tabla resume las características clínicas de algunos de estos tipos importantes de *E.coli* (Bell, 2000):

Cuadro V: Características de la enfermedad relacionada con E.coli (adaptada de Doyle y Padhye, 1989).

Tipo Patógeno de E.coli	Tiempos para el comienzo de la enfermedad	Duración de la enfermedad	Serie de síntomas
EPEC	17 a 72 horas. Promedio de 36 horas	6 horas a 3 días. Promedio 24 horas	Diarrea intensa en niños que puede durar más de 14 días. También fiebre, vómitos y dolor abdominal. En adultos, diarrea acuosa intensa con cantidades abundantes de moco (síntoma principal) sin sangre, y con nauseas, vómitos, calambres abdominales, dolor de cabeza, y escalofríos.
ETEC	8 a 44 horas. Promedio 26 horas	3 a 19 días	Diarrea acuosa, fiebre baja, calambres abdominales, malestar, nauseas.
VTEC	3 a 9 días. Promedio 4 días	2 a 9 días. Promedio 4 días	-Colitis hemorrágica (HC): comienzo súbito de intensos calambres abdominales dolorosos, diarrea groseramente sanguinolenta, vomito, sin fiebre. -Síndrome urémico hemolítico (HUS): diarrea sanguinolenta, insuficiencia renal, aguda en niños, trombositopenia, nefropatía aguda, convulsiones, coma, muerte. -Púrpura trombótica trombocitopenica (TTP): parecidos a los de HUS pero también fiebre, trastornos del sistema nervioso central, dolor abdominal, hemorragia gastrointestinal, coágulos de sangre en el cerebro, muerte.
EIEC	8 a 24 horas. Promedio 11 horas	Días a semanas	Diarrea profusa o disentería, escalofríos, fiebre, dolor de cabeza, dolor muscular, calambres abdominales

4.2.3. Procedencia de *E.coli*

El hábitat principal de *E.coli* es el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente. Las infecciones de *E.coli* se transmiten por tres vías principales:

1. directamente de los animales, que incluyen los animales de granja y los animales domésticos de compañía
2. mediante propagación persona a persona
3. por medio de alimentos contaminados

Algunos serogrupos de *E.coli* se encuentran como habitantes normales e inofensivos del intestino de los mamíferos pero otros contienen serotipos que son patógenos para el hombre y para los animales; se considera que estos no forman parte de la flora normal del intestino humano.

Todos los animales que incluyen el ganado vacuno, las ovejas, las crías de estos animales y las aves de corral, son portadoras de *E.coli* como flora comensal con frecuencia diferentes de las cepas normales en las personas (Bell, 2000).

Las cepas patógenas contenidas en la flora intestinal normal de los animales suponen un posible riesgo de infección para las personas por varias vías:

1. vía fecal-oral, de los animales a las personas durante las operaciones de la cría
2. contaminación fecal de las cosechas de alimentos cuando se utiliza estiércol no tratado o tratado incorrectamente como abono
3. contaminación fecal de las canales por prácticas poco higiénicas durante las operaciones de sacrificio y de evisceración.
4. consumo de leche fresca contaminada fecalmente, de leche mastítica por *E.coli* o productos fabricados con esta leche (Bell, 2000).

4.2.4 Factores que influyen en el crecimiento y supervivencia de *E.coli*

4.2.4.1. Generalidades

Es evidente, que es de suponer que los tipos apatógenos y patógenos de *E.coli* sean contaminantes de los alimentos crudos, especialmente de las carnes crudas, pero también de los cultivos de hortalizas que están expuestos a contaminación por materia fecal de los animales de sangre caliente.

La introducción y el funcionamiento conveniente de los sistemas de producción animal y de cultivo agrícola deben aspirar a reducir al mínimo la carga de contaminación fecal de los alimentos, materia prima que llega a las plantas de tratamiento. Por tanto los procedimientos de manipulación y tratamiento de la materia prima necesitan ser estructurados y que funcionen para reducir al mínimo cualquier multiplicación de *E.coli* y evitar la contaminación cruzada del organismo desde las materias primas de origen animal o vegetal a los alimentos tratados o al equipo. Esto exige del manipulador de alimentos un procedimiento de producción de alimentos bien diseñado y dirigido fielmente, basado en el análisis de los peligros y de los puntos críticos de control (HACCP) de cada tipo de alimento.

Además de prestar atención al detalle de los procedimientos de limpieza e higiene, el tratamiento y la formulación de los productos alimenticios es importante controlar microorganismos que hubieren quedado como contaminantes en la canal siendo estos posibles de causar perjuicios a los consumidores. En los procedimientos de

producción de alimentos pueden resultar eficaces varios factores físico-químicos, usados solos o asociados, para controlar la supervivencia y el crecimiento de *E. coli* durante el tratamiento y también en los productos acabados (Bell, 2000).

4.2.4.2. Temperatura

El siguiente cuadro muestra la temperatura óptima y los límites de temperatura para el crecimiento de *E. coli* que demuestra el intervalo de temperatura ligeramente más restringido tolerado por *E. coli* O157:H7. En condiciones de congelación, los recuentos de *E. coli* apatógenos resultan reducidos en diez veces a -25,5°C durante 38 semanas pero en el caso de *E. coli* O157:H7 en la carne se observó una modificación insignificante o nula en el número de organismos de la población durante 9 meses a -20°C (Bell, 2000).

Si bien *E. coli* no crecerá en las condiciones normales de las temperaturas de refrigeración usadas habitualmente en la industria alimentaria, esto es 3-7°C, *E. coli* patógeno puede sobrevivir bien durante varias semanas con solamente la reducción de 0,5-1,5 ciclos logarítmicos en las poblaciones observadas durante 1 a 5 semanas (ICSMF, 1996).

Cuadro VI: Temperatura óptima y límites de temperatura para el crecimiento de *E. coli* y *E. Coli* O157: H7

	Mínimo (°C)	Óptimo (°C)	Máximo (°C)
<i>E. coli</i> (todos los tipos)	7 - 8	35 - 40	44 - 46
VTEC O157:H7	8	37	44 - 45

Fuente: Moreno, 2005

Los organismos de *E. coli* patógenos no son especialmente termorresistente y al igual que en el caso de otros patógenos Gram negativo, la inactivación térmica/termorresistencia resulta afectada por otros factores predominantes, como el pH (aumenta la termosensibilidad), la actividad agua (a_w), el contenido de grasa (puede reducir la sensibilidad aparente del calor) y la adaptación previa del organismo, por ejemplo, la exposición previa a condiciones de stress (exposición anterior a calor ligero, esto es, choque térmico) y/o las condiciones anaeróbicas del crecimiento (puede reducir la sensibilidad aparente al calor).

Para conseguir que los tratamientos térmicos reduzcan de manera fiable las poblaciones de *E. coli* se deben tener en cuenta la densidad, el grosor, la composición y la temperatura inicial del alimento (Bell, 2000).

4.2.4.3. pH, actividad agua y otros factores

La Tabla resume algunos parámetros limitantes de *E. coli*. En los productos cuyo pH se convierte en no óptimo (generalmente ácido). El pH coadyuvará en el control del crecimiento bacteriano, que incluye el de cualquier *E. coli* que pueda hallarse presente. La supervivencia de los organismos depende del tipo de ácido presente y de otras condiciones físico-químicas predominantes (Bell, 2000).

En algunos brotes recientes de infección transmitida por alimentos debida a *E. coli* O157:H7 el organismo ha demostrado una importante acidotolerancia (Bell, 2000).

Cuadro VII: Parámetros limitantes del crecimiento correspondientes a *E.coli* patógeno (adaptada del The International Commission on Microbiological Specification for Foods, 1996).

	Mínimo	Máximo
pH	4,4*	9,0
a_w	0,95	-
Cloruro sódico	Crece con vigor en NaCl al 2,5 % Crece lentamente en NaCl al 6,5 % No crece en NaCl al 8,5 %	

* *E.coli* O157:H7 es ácido resistente, sobreviviendo en valores de pH menores que 4,4.

Es de suponer que los tratamientos térmicos aplicados a productos con un pH subóptimo y/o que contienen un ácido orgánico como conservador sean más eficaces que el mismo tratamiento térmico aplicado a un producto al pH óptimo para el organismo.

La actividad agua de un producto alimenticio se reduce mediante la adición de cloruro sódico, azúcares y/o otros azúcares. Cuanto más elevada es la concentración del soluto, tanto más baja es la actividad agua del producto.

En los productos cuya actividad agua se aproxima o es más baja que la mínima para el crecimiento de *E.coli*, el crecimiento del organismo será inhibido o reducido al mínimo con tal de que la actividad agua no aumente durante la vida del producto (ejemplo condensación) (Bell, 2000).

4.2.4.4. Recuento de Coliformes:

La presencia de bacterias coliformes en los alimentos no significa necesariamente que hubo una contaminación fecal o que hay patógenos entéricos presentes. Las bacterias coliformes son particularmente útiles como componentes de criterios microbiológicos para indicar contaminación postproceso térmico (Jay, 2005).

El uso del recuento de coliformes como indicador requiere un conocimiento amplio del proceso que el alimento ha sufrido (producción, procesamiento, distribución, etc.) y del efecto que él ha tenido en las bacterias coliformes (ANMTM, 2005).

VRBA es un medio preparado en placa el cual demuestra muy claramente la presencia de organismos entericos fermentadores de la lactosa. Esos organismos del grupo coliformes, debido a su capacidad de fermentar la lactosa, forman colonias subsuperficiales de color rojo púrpura, de 1 a 2 mm de diámetro y que están rodeadas generalmente por una zona rojiza de bilis precipitada. El rojo neutro en el medio indica una producción de ácido, mientras que las sales biliares y el violeta cristal inhiben el crecimiento de organismos gram positivos (Difco, 1984).

Al utilizar este medio selectivo, se obtendrán unos mejores resultados si dicho medio no está sujeto a la esterilización en autoclave, ya que los organismos que no se eliminan mediante la ebullición requerida para disolver el medio, no forman colonias durante el periodo de incubación de 24 horas. Después de la ebullición para disolver el medio por completo, ya está listo para su uso. Las placas no deben

incubarse más de 24 horas, puesto que los microorganismos cuyo crecimiento ha sido suprimido, pueden desarrollarse y confundir el recuento. Se obtienen mejores resultados si las placas no se siembran con excesiva densidad (Difco, 1984).

Dentro de este grupo, son los coliformes fecales los que tienen significado sanitario y, por consiguiente, los que más interesan en el análisis microbiológico de alimentos (Jay, 2005).

En general, niveles altos de *Enterobacteriaceae* lactosa-positivas (coliformes) indican manipulación y elaboración deficientes de los alimentos (Bell, 2000).

4.3- *Pseudomonas* psicrótrofas

El deterioro de las aves está limitado a la superficie porque las partes internas de los tejidos generalmente son estériles o contienen microorganismos que no suelen crecer a bajas temperaturas. La mayor parte de los organismos están en la superficie y los recuentos superficiales por cm^2 ofrecen mayor información que los recuentos de muestras que incluyen tejidos profundos.

Las canales de aves frescas y almacenadas en un ambiente muy húmedo son muy susceptibles al ataque por *Pseudomonas* spp. y en los estados de alteración avanzados se observa fluorescencia en la superficie iluminada con luz ultravioleta (ICMSF, 1998).

Cuando la carne de ave sufre deterioro, los malos olores se perciben antes que la presencia de limo, siendo detectados por primera vez cuando el recuento microbiano es aproximadamente 10^7 ufc/ cm^2 . El limo aparece después, con un recuento cercano a 10^8 ufc/ cm^2 (ICMSF, 1998).

La carne de pollo tiene un gran riesgo de contaminación durante su procesamiento. La temperatura de almacenaje, tipo de empaque y tipo y número de bacterias psicrótrofas son los mayores factores que determinan los el desperdicio de la carne de pollo. Las bacterias más comunes son *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, y *Brochotrix thermosphacta* (Tuncer y col, 2008).

Durante el empaque en mataderos las carcasas se enfrían a través de diferentes métodos, ya sea por inmersión en agua o a través de pasaje de aire a bajas temperaturas. Básicamente con estos procesos se busca mantener las carcasas entre -0.5 y $+4^\circ\text{C}$. El método de enfriado afecta el crecimiento de los microorganismos y la calidad de la carne (Tuncer y col, 2008; Russell y col. 1995).

Las bacterias psicrótrofas pueden ser contaminantes de plumas, patas o del agua utilizada en la planta de procesamiento. El recuento de bacterias psicrótrofas es utilizado como indicador de la vida útil del pollo fresco refrigerado. *Pseudomonas* spp. es la psicrótrofa más prevalente asociada a pollo refrigerado. De la contaminación con *Pseudomonas* spp. resulta alterado el sabor de la carne de pollo debido a la actividad proteolítica y lipolítica de esta bacteria. La población de *Pseudomonas* spp. en las carcasas de pollo disminuye significativamente durante el

escaldado a 53°C. Por esta razón, el recuento de *Pseudomonas spp.* en la carne de pollo es un buen indicador de higiene postescaldado (Ricaurte, 2005).

Pseudomonas spp. esta ampliamente distribuida en el ambiente y son los microorganismos que mas comúnmente alteran los alimentos almacenados a bajas temperaturas en condiciones aerobias, siendo las bacterias predominantes en la carne fresca refrigerada (Hinton, 2007).

Pseudomonas spp. es un grupo capaz de utilizar una gran cantidad de sustratos, mayor que otras bacterias alterantes. Por orden de facilidad de empleo dichos sustratos son: glucosa, glucosa-6-fosfato, lactato, piruvato, gluconato, gluconato-6-fosfato, citrato, aminoácidos, creatinina, aspartato y glutamato. Por otra parte, a diferencia de otros grupos microbianos alterantes el crecimiento de *Pseudomonas spp.* en la carne se caracteriza por generar gluconato y oxogluconato a partir de la glucosa en el entorno extracelular, compuestos que posteriormente serán utilizados como nutrientes por este grupo. Estas particularidades metabólicas de *Pseudomonas spp.* suponen una ventaja competitiva con respecto a otros grupos alterantes, con menores habilidades metabólicas (Jay, 2005).

En la alteración de la carne por *Pseudomonas spp.*, y probablemente también en la de los productos cárnicos cocidos la concentración de glucosa juega un papel clave. En la mayoría de los casos una vez agotada la glucosa y otros metabolitos no nitrogenados son degradados los aminoácidos y otros compuestos del nitrógeno no proteico; es entonces cuando empiezan a detectarse los signos de alteración en el aroma del producto, descritos como olor a establo, manteca, grasa, queso y en estados mas avanzados olor a putrefacción (Jay, 2005).

La degradación de aminoácidos libres da lugar a la formación de distintos compuestos como NH₃, sulfuros, aminas, indol y escatol, que además de producir estos malos olores incrementan el pH. En este sentido, se ha observado que ha mayor contenido de glucosa mayores son tanto el tiempo como la población de *pseudomonas spp.* (Jay, 2005).

4.4- *Staphylococcus aureus*

4.4.1. Taxonomía

S. aureus es la especie tipo de genero *Staphylococcus*, que se presenta de forma de cocos Gram.-positivos y catalasa-positivos que se dividen en mas de un plano para formar racimos tridimensionales de células. Desde el punto de vista morfológico, *Staphylococcus* es parecido al genero *Micrococcus* pero, en contraposición al metabolismo estrictamente aerobio de los micrococos, *S.aureus* crece en anaerobiosis y muestra un metabolismo de anaerobio facultativo (Jay, 2005).

Staphylococcus aureus es un microorganismo muy resistente a las condiciones ambientales y extremadamente difícil de erradicar. Pese a que no es esporulado (formas de resistencia elaboradas de forma natural por algunos microorganismos), soporta bien condiciones extremas aunque se inactiva a temperatura de congelación y puede eliminarse con una cocción correcta (Luppens, 2002).

4.4.2. Síntomas

Staphylococcus aureus es considerado el segundo agente patógeno más común de intoxicaciones alimentarias, solo lo supera *Campylobacter* (Berrada, 2006).

La aparición de los síntomas de la intoxicación alimentaria tiene lugar entre 1 y 7 horas (generalmente 2-4) después de la ingestión del alimento que contiene enterotoxina estafilocócicas. Los síntomas más corrientes son náuseas, vómitos, arcadas, espasmos abdominales y diarrea. En los casos graves se pueden presentar cefalgia y colapso. La curación es rápida, generalmente en un plazo de 2 días (Jay, 2005; Berrada, 2006)

El responsable del problema es una toxina de carácter termoestable, lo que permite que en alimentos cocinados se mantenga la toxina, aún cuando no esté presente el microorganismo. Por ello, el control exclusivo de la presencia de la bacteria no es suficiente, sobre todo si el alimento se ha cocinado previamente. En estos casos hay que proceder a controlar la toxina, ya que en caso contrario podría no localizarse un riesgo que hay que calificar de moderado a alto (Berrada, 2006).

4.4.3. Patogenicidad

Los estafilococos son comensales de las superficies corporales de los animales de sangre caliente. Las enfermedades que causan incluyen infecciones agudas, por ejemplo septicemia, y toxemias agudas, por ejemplo la intoxicación alimentaria estafilocócica.

S. aureus produce una gama especialmente amplia de sustancias (agresinas y exotoxinas) asociadas con la infecciosidad y con la enfermedad. Varían desde componentes de la pared celular, por ejemplo ácidos teicoicos, hasta una amplia gama de exoenzimas que incluyen la estafiloquinasa, hialuronidasa, fosfatasa, coagulasas, catalasas, proteasas, nucleasas y lipasas, leucocidinas, hemolisinas y las enterotoxinas que causan la intoxicación alimentaria.

Las enterotoxinas estafilocócicas tienen un peso molecular bajo (26000-34000 Da); son proteínas de cadena sencilla, que incluyen una cadena polipeptídica que contiene cantidades relativamente grandes de lisina, tirosina y ácido aspártico y glutámico y que se caracterizan por contener solamente dos restos de hemicistina y uno o dos restos de triptófano.

En la actualidad se admiten veinte tipos antigénicos de enterotoxinas estafilocócicas algunos autores coinciden en que SEA-SEE son las enterotoxinas más comúnmente relacionadas en intoxicaciones por *Staphylococcus aureus* (Vanegas y col, 2008).

Comunicaciones internacionales coinciden en que la enterotoxina A es la más prevalente en las cepas de *Staphylococcus aureus* de origen humano y por tanto también en productos que requieren manipulación y están listos para el consumo humano (Vanegas y col, 2008)

Se ha indicado que son producidas por el organismo por lo menos en dos formas diferentes. La producción de los tipos SEB y SEC se halla bajo control

plasmidico/cromosómico y son producidas principalmente al final de la fase estacionaria del crecimiento como metabolitos secundarios; los tipos SEA y SEE se hallan bajo control cromosómico (el tipo SED bajo control plasmidico) y son producidos durante toda la fase logarítmica del crecimiento. Estas diferencias están reflejadas en la formación de los diferentes tipos en los alimentos: la mayoría de los brotes de intoxicación alimentaria implican a las enterotoxinas A y D, que se forman en los alimentos en una gama de pH, aw y de Eh mucho mas amplia que la correspondiente a las enterotoxinas B y C, los biotipos humanos de *S.aureus* producen enterotoxinas mas frecuentemente que los biotipos aviares y que otros biotipos animales.

El modo de acción de la toxina no ha sido esclarecido del todo pero se cree que tanto los vómitos como la respuesta diarreica son el resultado de la estimulación de neuroreceptores locales existentes en el tracto intestinal y de la transmisión de los estímulos al centro del vomito del cerebro a través del vago y de otras partes del sistema nervioso simpático.

La cantidad de toxina que causa enfermedad depende del peso y de la sensibilidad individual, pero generalmente se coincide en que 0,1-1 µg/Kg causara enfermedad en una persona. En los animales, la exposición reiterada a un determinado tipo antigénico de toxina origina un aumento de la tolerancia (Jay, 2005).

4.4.4. Recuento

El método de elección es el medio Baird-Parker. Este medio se basa en el uso de agentes (telurito, glicina y cloruro de litio) para seleccionar *S. aureus* y yema de huevo para coadyuvar en la regeneración de las células dañadas. La principal característica diagnostica es la licuación de la yema de huevo (hidrólisis de la lipovitelina), pero algunas cepas bovinas de *S. aureus* no manifiestan esta característica (Mossel, 2003).

Cultivadas en medio Baird Parker las colonias típicas de *Staphylococcus* son negras o grises, brillantes y convexas, (de entre 1,5 mm y 2,5 mm de diámetro) y rodeadas de una zona clara, también puede aparecer en esta zona clara un anillo opalescente en contacto con las colonias (USDA, 2011).

4.4.5. Distribución en la naturaleza e importancia en los alimentos

S.aureus es un microorganismo ubicuo, encontrándose en mucosas y en la piel de a mayoría de los animales de sangre caliente. Es un patógeno oportunista y, si bien generalmente es comensal, con frecuencia causara infección a través de una herida abierta o como consecuencia de cambios en la fisiología del hospedador llevados a cabo, por ejemplo un desequilibrio hormonal. Las vehiculaciones nasal o perineal son muy frecuentes, aunque en algunas circunstancias son colonizadas las manos y otras partes del organismo: piel dañada o con presencia e humedad. El organismo es resistente a la desecación y puede colonizar el material que se utiliza en la elaboración de alimentos que resulta difícil de limpiar y se deja húmedo. Con frecuencia se han encontrado en el polvo existente en los sistemas de ventilación y en los aspiradores (Jay, 2005).

S.aureus compite con otras bacterias y por ello rara vez causa intoxicación alimentaria en un producto crudo. Los estafilococo son destruidos fácilmente por la cocción, pero las toxinas que producen serán resistentes a este tratamiento. La

intoxicación alimentaria aparece muy frecuentemente cuando un alimento còcido es contaminado por una persona colonizada y después se guarda en un ambiente caliente (20-40°C) durante varias horas. Como ya se menciona el microorganismo es resistente a la desecación, por lo que puede crecer y producir enterotoxinas en los productos que tienen una actividad agua tan baja como 0,85 (Jay, 2005).

4.4.6. Características del crecimiento y de la supervivencia

4.4.6.1. Efecto de la temperatura sobre la supervivencia durante el almacenamiento en congelación

S.aureus es muy resistente a la congelación y a la descongelación y sobrevive perfectamente en los alimentos que se conservan a temperaturas < -20°C. A temperaturas superiores de - 10°C a 0°C, la viabilidad decrece notablemente durante la congelación. En los alimentos que se conservan congelados, las enterotoxinas estafilococicas son muy estables (Jay, 2005).

4.4.6.2. Efecto de la temperatura (0-50°C) sobre el crecimiento y sobre la producción de enterotoxinas

El crecimiento es óptimo entre 35-40°C, hallándose sus límites aproximadamente en las temperaturas de 7°C y 48°C. A 10°C, la fase logarítmica es prolongada (>20 horas) y cuando comienza el crecimiento, este es muy lento. A temperaturas mas bajas, el crecimiento es limitado por las reducciones insignificantes de las actividad agua o del pH y además se reduce por la conservaciones condiciones de anaerobiosis. Las enterotoxinas estafilococicas son producidas bajo una serie de condiciones que, comparadas con las condiciones de crecimiento, son más limitadas pero resultan afectadas de modo parecido por los factores que influyen en el crecimiento. Las enterotoxinas A y D generalmente son producidas bajo una serie de condiciones de crecimientos mas amplia que en el caso de la producción de la enterotoxina B (Jay, 2005).

4.4.6.3. Efecto de la temperatura (50-150°C) sobre la destrucción de las células y de las enterotoxinas

El organismo suele ser destruido fácilmente a las temperaturas que se utilizan en la pasteurización y en la cocción de los alimentos; en los alimentos secos y en los alimentos con elevado contenido de grasa la resistencia aumenta. Todas las enterotoxinas son extraordinariamente resistentes al calor y pueden resistir el tratamiento térmico que se utiliza para esterilizar los alimentos enlatados de baja acidez (Pepe, 2006).

La termorresistencia de las células resulta afectada por las condiciones de crecimiento, de modo que la resistencia es incrementada algo por las condiciones de crecimiento a temperaturas elevadas (>37°C) y es disminuida por el crecimiento a temperaturas bajas (<20°C) (Jay, 2005).

4.4.6.4. Efecto de la irradiación sobre *S.aureus* y sobre las enterotoxinas

S.aureus es destruido fácilmente por las radiaciones ionizantes y no ionizantes. La enterotoxina estafilocócica es muy resistente a la irradiación gamma y no será destruida por las dosis que se utilizan en el tratamiento de los alimentos (Jay, 2005).

4.4.6.5. Efecto de la actividad agua sobre el crecimiento y sobre la producción de enterotoxina

S.aureus es un organismo tolerante a la sal y crece a una actividad agua tan baja como 0,85 (contenido de sal 25%p/p) bajo condiciones de crecimiento por otra parte óptimas. Sin embargo, con otros humectantes, el crecimiento con frecuencia es limitado en una aw más elevada.

La producción de enterotoxina tiene lugar bajo una serie de condiciones más limitada que el crecimiento; la producción de enterotoxina A puede tener lugar a actividad agua más baja que la producción de enterotoxina B (Jay, 2005).

4.4.6.6. Efecto del pH sobre el crecimiento y sobre la producción de enterotoxina

Bajo condiciones por otra parte óptimas *S.aureus* es capaz de crecer a pH<4,3 con ácido inorgánico, por ejemplo HCL, como acidulante. Sin embargo, en presencia de ácidos orgánicos, los límites del pH de crecimiento son mucho más elevados (Jay, 2005).

4.4.6.7. Efecto de los gases sobre *S.aureus*

S.aureus crece tanto en aerobiosis como en anaerobiosis, pero generalmente más lentamente bajo condiciones de anaerobiosis. En cambio, comparada con la supervivencia en anaerobiosis, la supervivencia de las células se puede mejorar en condiciones de anaerobiosis (Jay, 2005).

4.4.6.8. Factores críticos

S. aureus existe en abundancia en la piel y en las mucosas de los animales de sangre caliente, pero el origen principal de las cepas productoras de enterotoxina es el portador humano. Los alimentos se pueden contaminar como consecuencias de prácticas higiénicas defectuosas en cualquier parte de la cadena alimentaria y, si aquellas van acompañadas de su posterior conservación a temperaturas y durante periodos que permiten un crecimiento importante, puede tener lugar la formación de las enterotoxinas de la intoxicación alimentaria. Por tanto, el control se consigue protegiendo los productos de la contaminación y evitando las condiciones en las que puede existir crecimiento (Jay, 2002).

Las células de *S.aureus* son destruidas fácilmente por calor, pero toleran la sal por lo que pueden ser encontradas en los productos que contienen sal o en productos con valores reducidos de actividad agua. Son muy resistentes a la desecación y sobreviven perfectamente bajo la mayoría de las condiciones ambientales y por ello pueden persistir durante algún tiempo en las zonas de producción de alimentos, donde pueden actuar como fuente de contaminación de productos que no están

adecuadamente protegidos. Las enterotoxinas se producen bajo una amplia gama de condiciones ambientales y de almacenamiento. Son muy resistentes al calor y resistirán la cocción y algunos tratamientos de esterilización (ICMSF, 1998).

5. CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA

Todas las personas tienen derecho a esperar que los alimentos que comen sean inocuos y aptos para el consumo. Las enfermedades de transmisión alimentaria y los daños provocados por los alimentos son, en el mejor de los casos, desagradables, y en el peor pueden ser fatales. Pero hay, además, otras consecuencias. Los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos pueden perjudicar al comercio y al turismo y provocar pérdidas de ingresos, desempleo y pleitos. El deterioro de los alimentos ocasiona pérdidas, es costoso y puede influir negativamente en el comercio y en la confianza de los consumidores (FAO, OMS, 2009^a).

De acuerdo con nuestro reglamento bromatológico nacional podemos definir carne como: la parte muscular comestible de bovinos, ovinos, caprinos, suinos, equinos, aves y conejos, declarada apta para la alimentación humana por la inspección veterinaria oficial, antes y después de la faena, constituida por todos los tejidos que rodean el esqueleto, incluyendo su cobertura grasa, tendones, vasos nerviosos, aponeurosis, ligamentos, cartílagos y todos aquellos tejidos no separados durante la operación de faena. Además se considera carne el diafragma, no así el corazón, el esófago, la lengua y los músculos del aparato hioideo.

El término carne por extensión se aplica también a los productos de caza, aves o mamíferos, que se comercializan tradicionalmente para la alimentación humana.

Además define animal faenado que en relación con las aves sacrificadas son, las partes del animal después del desplume, separación de la cabeza y de las patas (a nivel de la articulación tibiotarsiana), extracción de tráquea, esófago, estómago glandular y muscular, intestino, pulmones, sacos aéreos, corazón, bazo, hígado con vesícula biliar, riñones (en aves adultas), ovarios o testículos, glándula uropígea y cloaca.

Tal como fue descrito con anterioridad los problemas de estas por consumo de carne de pollo es un problema el cual se debe afrontar por todos los agentes que intervienen en la cadena alimentaria, debiéndose establecer criterios microbiológicos que permitan determinar la aceptabilidad o rechazo del producto en cuestión.

El Codex Alimentarius establece que el criterio microbiológico para un alimento define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basada en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, incluidos parásitos, y/o en la cantidad de sus toxinas/metabolitos, por unidad o unidades de masa, volumen, superficie o lote (FAO, OMS, 2009^a).

Actualmente por la única disposición que se rigen los organismos de contralor estatales es por la publicación del decreto 315/994, en el cual presenta un capítulo de disposiciones generales, allí establece que desde el punto de vista microbiológico los ingredientes alimentarios y los alimentos no podrán contener:

- Microorganismos patógenos
- Toxinas u otros metabolitos microbianos actual o potencialmente riesgosos
- Agentes microbianos capaces de causar alteración y que la tecnología exigible para su elaboración debió eliminar:

- Cualquier tipo de microorganismo que por su cantidad o por sus cualidades indique una manipulación defectuosa, malas condiciones higiénicas o haga presumir la presencia de microorganismos patógenos.

Como se muestra nuestro reglamento bromatológico es un tanto escaso en la materia de carne de pollo, no existiendo ningún criterio microbiológico, que nos permita aplicar pautas de aceptación o rechazo del producto en cuestión en base a las variables estudiadas.

A diferencia de otros países y organizaciones los cuales si cuentan con estudios y valores con los cuales tratare de comparar.

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVOS GENERAL

Obtener información sobre la calidad microbiológica de carne de pollo distribuida en Montevideo.

6.1.1 Objetivos Específicos

1- Obtener una primera aproximación a parámetros microbiológicos que permitan determinar la vida útil (recuento de aerobios mesófilos); indicadores de la higiene del proceso de faena, transporte y comercialización (coliformes totales); microorganismos alterantes (*Pseudomonas*) y microorganismos patógenos (*Staphylococcus spp.*)

2- Comparar con valores de referencia a nivel internacional.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 LOCALIZACION

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio del Área de Microbiología de Alimentos del Departamento de Calidad Agroalimentaria perteneciente al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos de origen animal.

7.2. MUESTREO

Las unidades de trabajo o muestras fueron carcasas de ave a las cuales se las trató por el método de enjuague el cual es descrito en el ítem siguiente.

Las muestras fueron obtenidas en forma aleatoria a partir de diferentes puntos de venta de carne de pollo en Montevideo. Se obtuvieron 50 muestras en total, en un ritmo de 4 semanales aproximadamente.

El período de muestreo se extendió entre los meses de noviembre de 2010 y abril de 2011.

7.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras se prepararon según el método descrito por Cox (1981) y adoptado por el ICMSF (1984) y el USDA (1996).

La manipulación de las carcasas se realizó con guantes plásticos estériles.

Para el muestreo se usó el procedimiento de lavado y agitación de las canales. En este procedimiento cada canal se introdujo en una bolsa de plástico estéril, conteniendo 300 mL de solución salina estéril.

Con la bolsa cerrada se agitó de forma vigorosa horizontal y verticalmente durante 30 segundos con la finalidad de extraer microorganismos contaminantes superficiales y cavitarios. Ya que la totalidad de la superficie externa e interna de la canal debe estar en contacto con el diluyente estéril durante la agitación.

El líquido así obtenido, se llevó a un recipiente estéril el cuál se almacenó a 4°C hasta su uso para la determinación de las variables correspondientes a los indicadores propuestos. (Cox, 1981; ICMSF, 1984; USDA, 1996).

7.3.1. Diluciones

Previamente a la siembra del material recogido se realizaron 3 diluciones decimales (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}) en condiciones de esterilidad. Se sembraron aquellas más apropiadas para cada indicador.

7.4. INDICADORES ANALIZADOS

7.4.1 Recuento de Aeróbios Mesófilos

Para analizar este indicador se realizó siembra en placa vertida con el medio de cultivo "Plate Count Agar" (PCA) o Agar para Recuento en Placa (DIFCO).

A continuación se detalla la composición del medio utilizado:

Cuadro VIII: Composición PCA.

Ingrediente	Cantidad
Triptona	5,0 g
Extracto de levadura	2,5 g
Dextrosa	1,0 g
Agar	15,0 g

El medio se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante.

1- Se suspendieron a razón de 23,5g en 1 litro de agua destilada (de acuerdo a las necesidades) o desionizada luego se calentó hasta la ebullición para disolver por completo.

2-Se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 15 lbs de presión (121°C).

Se seleccionó para su siembra, la dilución 10^{-3} . Cada siembra se realizó por duplicado.

Por cada duplicado se procedió de la siguiente manera:

Se transfirió en forma aséptica 1 mL de inóculo en una placa estéril vacía. Se incorporaron unos 15 mL de medio PCA fundido, cuando su temperatura estuvo entre 45 y 50 °C.

Finalmente la placa se invirtió y se incubó a 37 °C durante 45 a 48 h.

7.4.2 Coliformes totales

Se utilizó Violeta Rojo Bilis Agar (VRBA) para medir este indicador debido a que es un medio selectivo y diferencial utilizado para la detección y recuento de bacterias coliformes. Es un medio selectivo por la presencia simultánea de cristal violeta y sales biliares las cuales inhiben las bacterias Gram -positivas.

Se considera un medio diferencial debido a que la fermentación de la lactosa produce la acidificación del medio, que se muestra por el color rojo del indicador de pH (rojo neutro) y por la precipitación de las sales biliares en torno a las colonias.

Se utilizó el medio VRBA de Difco.

A continuación se detalla la composición del medio utilizado:

Cuadro IX: Composición VRBA

Ingrediente	Cantidad
Extracto de Levadura	3g
Peptona	7g
Sales Biliares N°3	1,5g
Lactosa	10g
Cloruro de Sodio	5g
Agar	15g
Rojo Neutro	0,03g
Violeta Cristal	0,002g

El medio se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante.

Método de Preparación

1. Se suspendió a razón de 41,5 g en 1 litro de agua destilada o desionizada de acuerdo a las necesidades luego se calentó hasta ebullición para que se disuelva por completo. No se debe autoclavar.
2. Se enfrió hasta 45 °C y se dispensó 15 – 20 mL de medio en placas de petri de 100 mm que contengan inóculo, rotando la placa para distribuir el inóculo.
3. Se dejó que la placa inocular se solidifique.
4. Se distribuyó uniformemente 4 ml de medio sobre la superficie de la placa hasta formar una capa.

De la dilución 10^{-1} se transfirió en forma aséptica 0,1 ml de inóculo en superficie de placas con medio VRBA de la marca Difco. Dicha maniobra se realizó por duplicado.

Se extendió el inóculo sobre la superficie de la placa de agar rápidamente sin tocar las paredes, utilizando el asa de Drigalski estéril.

Luego se invirtieron e incubaron 45 – 48 h a 37 °C

7.4.3. *Staphylococcus spp.*

En este caso el medio de elección fue el Baird Parker ya que es un medio selectivo y diferencial. Este medio es selectivo ya que contiene litio y telurito potásico para suprimir el crecimiento de organismos no deseados, en tanto que permite crecer *Staphylococcus aureus*. Además, incluye piruvato y glicina para potenciar el crecimiento de los estafilococos. El crecimiento de estos últimos se puede observar solo ocasionalmente, y las colonias, con anchas zonas opacas, que aparecen después de 24 horas de incubación a 37°C, se distinguen fácilmente por su irregular apariencia.

A continuación se detalla la composición del medio utilizado:

Cuadro X: Composición Baird Parker

Ingrediente	Cantidad
Triptona	10g
Extracto de carne	5g
Extracto de levadura	1g
Glicina	12g
Piruvato de sodio	10g
Cloruro de litio	5g
Agar	20g

El medio se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante:

1. Se suspendieron a razón de 63g en 950mL de agua destilada o desionizada. Se calentó hasta la ebullición para que se disuelva completamente.
2. Se esterilizó en el autoclave durante 15 minutos a 15 lbs de presión (121°C)
3. Se dejó enfriar hasta 45-50°C. Entre tanto, calentó el Tellurite Enrichment (Enriquecimiento con telurito) a 45-50 °C.
4. Luego de agitó el enriquecimiento completamente para suspender el precipitado.
5. Asépticamente, se añadió 50 ml de enriquecimiento para preparar la base. Se mezcló totalmente y dispensó en placas. Se recomienda 15 mL aproximadamente para placas de petri estándar, a fin de conseguir un espesor suficiente para observar las zonas transparentes.
6. Se dejó que se sequen las superficies, luego se extendió 0,1 mL del inóculo sobre las placas.
7. Luego se incubó a 37°C y la lectura se realizó después de 24-36 horas.

De la dilución 10^{-1} se transfirió en forma aséptica 1 mL de inóculo dividido en 3 placas con medio Baird Parker. Esta muestra de 1,0 mL sobre 3 placas, se trataron como si fueran una sola para el recuento de *Staphylococcus*.

Se extendió el inóculo sobre la superficie de la placa de agar rápidamente sin tocar las paredes, utilizando el asa de Drigalski estéril.

Luego se invierten e incuban 45 – 48 h a 37 °C.

7.4.4 *Pseudomonas spp.*

El medio utilizado para detectar *Pseudomonas spp.* es Agar Cetrimida. El Agar Cetrimida es un medio selectivo que se recomienda para el aislamiento e identificación de *Pseudomonas spp.*

La cetrimida se añade para inhibir bacterias distintas a *Pseudomonas spp.* Su acción como amonio cuaternario, detergente catiónico, hace que el nitrógeno y el fósforo se liberen de las células bacterianas distintas de la *Pseudomonas spp.*

A continuación se detalla la composición del medio utilizado:

Cuadro XI: Composición Agar Cetrimida

Ingrediente	Cantidad
Peptona	20g
Cloruro de Magnesio	1,4g
Sulfato Potásico	10g
Bromuro de Cetiltrimetilamonio	0,3g
Agar	13,6g

El medio se preparó siguiendo las instrucciones del fabricante.

1. Se suspendieron a razón de 45,3 g en 1 litro de agua destilada o desionizada. Se añadió 10 mL de glicerol y se calentó hasta ebullición para disolver.
2. Se dispensaron en tubos o frascos.
3. Se esterilizó en autoclave durante 15 minutos a 15 lbs de presión (121°C).
4. Para el aislamiento de *Pseudomonas spp.*

De la dilución 10^{-2} se transfirió en forma aséptica 0,1 ml de inóculo en superficie por placa con medio agar cetrimida de la marca Difco. Para este caso se realizó la maniobra por duplicado.

Luego se extendió el inóculo sobre la superficie de la placa de agar rápidamente sin tocar las paredes, utilizando el asa de Drigalski estéril.

Luego se invierten e incuban 45 – 48 h a 37 °C

7.5. MATERIALES DE LABORATORIO:

- Aparato para esterilización en seco (horno) y para esterilización húmeda (autoclave)
- Incubadora (con intervalos de temperatura de 35 °C±1 o de 37 °C±1).
- Balanza de precisión.
- Placas de Petri, estériles de plástico.
- Asa de Drigalski
- Diluyente estéril.
- Bolsas de stomacher.
- Pipetas graduadas descartables de capacidad nominal de 1mL y 10 mL.

7.6. VALORES DE REFERENCIA

Se seleccionaron como valores de referencia los fijados por Jouve (1996). Las cuales para carcasas enteras y productos con piel establece como aceptable:

- Aerobios: 5×10^5 g de piel
- Pseudomonas: 5×10^3 g de piel
- Coliformes: 10^4 g de piel
- Staphylococcus aureus: 10^3 g de piel

7.7. ANALISIS ESTADISTICO

Los datos obtenidos se transformaron a logaritmo, con dichos datos se practicó un análisis exploratorios de datos y un t de Student para cada variable utilizando para ello los valores de referencia.

En primer lugar se estableció un test de hipótesis considerando como H_0 que los resultados obtenidos para cada variable no presentaban diferencias respecto a los valores de referencia. Como H_1 se estableció que los resultados obtenidos eran significativamente diferentes a los valores de referencia.

Se eligió trabajar con un nivel de significación del 5%.

Se aplicó t de Student de dos colas, con un tratamiento y un valor de referencia.

8. RESULTADOS

Los resultados obtenidos se detallan en el siguiente cuadro. En el cual se puede visualizar el logaritmo del recuento de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.*, Coliformes y el Recuento de Mesófilos en PCA. En el total de muestras analizadas (n= 50).

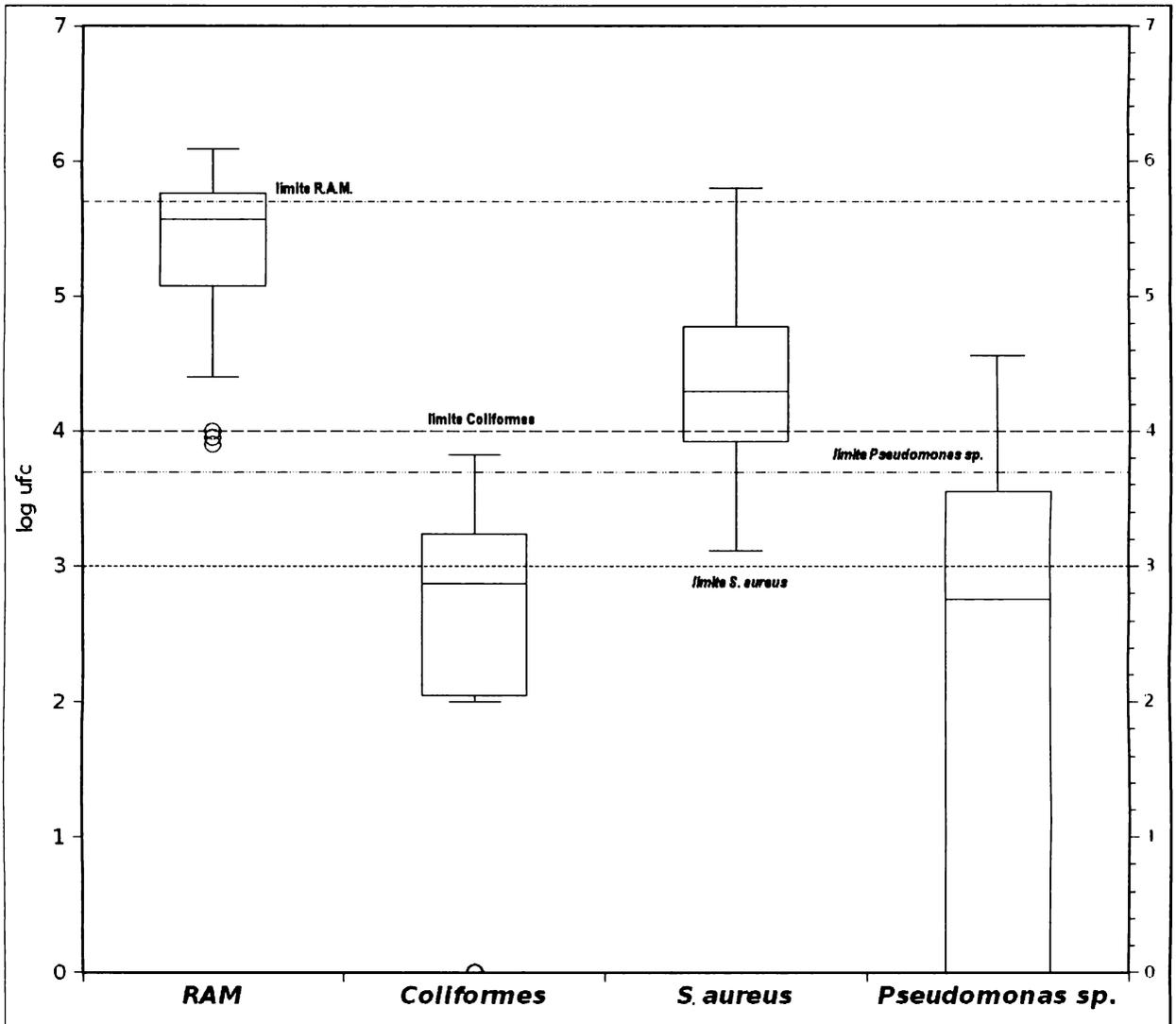
Cuadro XII: Resultados obtenidos y valores de referencia.

INDICADOR	Valor medio obtenido (log ufc/cm ²)	Valor de Referencia (log ufc/g de piel)	Diferencias Significativas
RAM	5,35 ± 0,58 #	5,69	Si
Coliformes	2,41 ± 1,23	4,0	Si
Staphylococcus aureus	4,33 ± 0,54	3	Si
Pseudomonas	1,97 ± 1,84	3,69	Si

Para todos los casos $p < 0,05$.

Media ± Desvío estándar.

Figura II: Recuento de Aerobios Mesófilos (RAM), coliformes, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas spp.*



9. DISCUSIÓN

Si bien los datos obtenidos para recuentos de aerobios mesófilas (RAM) resultaron altos, al compararlos con los fijados como referencia vemos que los encontrados son significativamente inferiores ($p < 0,05$).

Al comparar nuestros datos con los obtenidos por diferentes autores que realizaron muestreos similares, se observa que algunos son significativamente más altos (Tuncer y col, 2008).

También encontramos resultados de autores los cuales fueron significativamente inferiores (Hannah y col, 2008). Mientras que los resultados obtenidos por otros autores no muestran diferencias significativas con los datos obtenidos en el presente estudio (Northcutt y col, 2006).

Para el caso de *Staphylococcus* los resultados obtenidos fueron superiores a los encontrados como referencia. Esto es de importancia ya que se trata de una bacteria que se encuentra entre los diez patógenos más frecuentes causantes de enfermedades transmitidas por los alimentos, siendo el más implicado en la salud pública a nivel mundial (Vanegas y col, 2008).

En Uruguay, según datos recogidos del Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las ETA, durante el período 1993-2001 han sido declarados 12 brotes de intoxicación estafilocócica, con un total de 164 afectados sin fallecimientos.

En 9 brotes se identificaron lácteos como alimento responsable, siendo carnes rojas y aves en los 3 restantes.

En cuanto a los locales de origen, 7 brotes ocurrieron en comedores, 2 en viviendas y los 3 restantes en restaurantes, escuela y otros (Acuña, 2002).

En el estudio de coliformes vimos que si bien nuestros recuentos en muchas ocasiones resultaron altos, al compararlos con los de referencia son significativamente inferiores ($p < 0,05$).

Al comparar nuestros datos con los resultados por otros autores vemos que los resultados obtenidos en el presente estudio son significativamente inferiores (Tuncer y col, 2008; Smith y col, 2007; Northcutt y col, 2006).

Para el caso de las *Pseudomonas* spp. vimos que los resultados obtenidos son significativamente inferiores a los obtenidos como referencia. Además al compararlos con los resultados obtenidos por Tuncer en el 2008 vemos que nuestros resultados son también significativamente inferiores.

10. CONCLUSIONES

En base a los resultados recabados a través de este trabajo, se puede concluir que los recuentos de aerobios mesófilos (RAM), coliformes totales y pseudomonas spp. están por debajo los establecidos como referencia. Sin embargo los recuentos de Staphylococcus son superiores a los establecidos como referencia. Este recuento elevado puede ser debido a falta de higiene en procesos de elaboración, distribución, o expendio de las canales.

En cuanto a la técnica utilizada para el muestreo podemos concluir que es una técnica fácil de utilizar, de bajo costo. Su escaso nivel de complejidad lleva a que pueda ser utilizado para el control y monitoreo de planes HACCP en plantas de faena o locales comerciales. Al no ser un muestreo destructivo el producto puede comercializarse luego de obtenido los resultados satisfactorios en los recuentos.

11. RECOMENDACIONES

Incrementar los controles por parte de los organismos de fiscalización a través de planes de muestreos obligatorios, a nivel de planta y en los lugares de comercialización de los pollos.

Realizar un muestreo significativo de los pollos faenados, a fin de poder establecer límites microbiológicos a nivel nacional, estableciendo así criterios de aceptación o rechazo para los pollos.

Las empresas elaboradoras deberían establecer políticas de inocuidad de los alimentos, teniendo en cuenta estos indicadores para el control y verificación de sus procesos productivos.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Acuña, A. (2002). Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay. Montevideo, OPS. Disponible en:
<http://www.bvsops.org.uy/pdf/etas.htm#Indice>.
Fecha de Consulta: 21/8/2011.
2. ANMAT. Administración Nacional de Medicamentos y Tecnología Médica (2005), Guía de interpretación de resultados Microbiológicos de Alimentos, instituto nacional de alimentos. Disponible en:
http://www.anmat.gov.ar/alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf
Fecha de Consulta:23/05/2011.
3. Bell, C., Kyriakides, A. (2000). E.coli, una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos. Zaragoza, Acribia, 234 p.
4. Berrada, H. (2006) Real time quantitative PCR of Staphylococcus aureus and application in restaurant meals. Journal of Food Protection 69(1):106-111.
5. Campos, E. B. (2004). Vigilancia tecnológica de alimentación. Gestión de la innovación y de la tecnología 23. Disponible en:
<http://www.madrimasd.org/revista/revista23/directa/directa3.asp#principio>.
Fecha de consulta: 18/8/2011.
6. Capita, R. Moreno, B. (2001) Microbiological quality of retail poultry carcasses in Spain. Journal of Food Protection 64(12):1961-1966.
7. Cason, J.A., Buhr, R. J., Hinton, Jr. A. (2006). Release of Escherichia coli from feathered and featherless. Poultry Science 85:1807–1810.
8. Cox, N. A., Thomson, Bailey (1981). Sampling of broiler carcasses for Salmonella with low volume water rinse. Poultry Science 60:768–770.
9. Difco (1984). Manual de Microbiología. Medios de cultivo deshidratados y reactivos para microbiología. 10ª ed. Madrid, Mirasa, 925 p.
10. Dooley S.G (2000). Control of vegetative micro-organism in foods, British Medical Bulletin 56 (1):142-157.
11. Errea, E. (2010), Anuario OPYPA 2010, Carne Aviar: situación y perspectivas. Disponible en:
<http://www.mgap.gub.uy/opypa/ANUARIOS/Anuario2010/material/pdf/06.pdf>.
Fecha de consulta 21/05/2011.
12. FAO. OMS (2009) Codex Alimentarius. Sistemas de inspección y certificación de importaciones y exportaciones de los alimentos, 4ª.ed, Roma. Disponible en:

ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Inspection/CCFICS_2009_ES.pdf.
Fecha de consulta: 16/8/2011.

13. FAO. OMS (2009^a) Codex Alimentarius. Higiene de los alimentos, Textos básicos. 4^a.ed. Roma. Disponible en:
ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Hygiene/FoodHygiene_2009s.pdf
Fecha de Consulta: 16/8/2011.
14. FAO. OMS (2009^b) Codex Alimentarius. Producción de alimentos de origen animal, 2^a. Ed., Roma. Disponible en:
ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Animal/Animal_Food_Prod_ES.pdf
Fecha de consulta: 16/8/2011.
15. FAO. OMS (2005) Codex Alimentarius. Código de prácticas de higiene para la carne CAC/RCP 58/2005. Disponible en:
http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10196/CXP_058s.pdf.
Fecha de consulta: 20/8/2011.
16. FAO. OMS (2004) Codex Alimentarius. Directrices generales sobre muestreo CAC/GL 50-2004. Disponible en:
http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10141/CXG_050s.pdf.
Fecha de consulta: 20/8/2011.
17. FAO. OMS (2003) Codex Alimentarius. Código internacional de prácticas recomendado. Principios generales de higiene de los alimentos. CAC/RCP 1-1969, Rev 4 (2003). Disponible en:
http://www.codexalimentarius.net/download/standards/23/cxp_001s.pdf.
Fecha de consulta: 19/8/2011.
18. FAO. OMS. (1997) Codex Alimentarius. Principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos a los alimentos. CAC/GL 21-1997. Disponible en:
http://www.codexalimentarius.net/download/standards/394/CXG_021s.pdf.
Fecha de Consulta: 19/8/2011.
19. Hannah J.F.; Fletcher, D. L.; Cox, N. A.; Smith, D. P.; Cason, J. A.; Northcutt, J. K.; Richardson, L. J.; Buhr, R. J (2008). Effect of sand and shaking duration on the recovery of aerobic bacteria, coliforms, and Escherichia coli from prechill broiler whole carcass rinsates. Poultry Science 87:272-277.
20. Hinton, Jr. A. (2007). Spoilage microflora of broiler carcasses washed with electrolyzed oxidizing or chlorinated water using an inside-outside bird washer. Poultry Science 86: 123-127.
21. INAC (1999) Resolución 215/999 del Instituto Nacional de carnes de 1 de setiembre de 1999, Norma reglamentaria para la habilitación y funcionamiento de pollerías. Disponible en: http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/1928/1/-res_215-999.pdf. Fecha de consulta: 29/8/2011.

22. International Comisión on Microbiological Specifications for Foods ICMSF (1983) *Microorganismos de los alimentos 2, métodos de muestreo para análisis microbiológicos: Principios y aplicaciones específicas*. Zaragoza, Acribia. 215 p.
23. International Comisión on Microbiological Specifications for Foods, ICMSF. (1984) *Microorganismos de los alimentos. técnicas de análisis microbiológico*. 2a. ed, Zaragoza, Acribia. 431 p.
24. International Comisión on Microbiological Specifications for Foods. ICMSF (1991) *El sistema de análisis de riesgos y puntos críticos. Su aplicación a las industrias de alimentos*. Zaragoza, Acribia. 332 p.
25. International Comisión on Microbiological Specifications for Foods. ICMSF (1998), *Microorganismos de los alimentos, Características de los patógenos microbianos*, Zaragoza, Acribia, 605 p.
26. James, W.O. (1992) Profile of selected bacterial counts and salmonella prevalence on raw poultry in a poultry slaughter establishment. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 200(1):57-59.
27. Jay, J. M. (2005) *Modern Food Microbiology*, 7a.ed, New York. Springer. 790 p.
28. Jouve, J. L. (1996). *La qualité microbiologique des aliments. Maitrise et criteres*. 2^a. ed. Paris. Polytechnica. 565 p.
29. Lewys, S. J. (2002). Effect of electron beam irradiation on poultry meat safety and quality. *Poultry Science* 81: 896-903.
30. Luppens, S. B. (2002). The growth phase of *Staphylococcus aureus* on resistance to desinfectans in a suspension test. *Journal of Food Protection* 65(1):124-129.
31. Moreno, R. (2005) *Calidad de la carne de pollo*. Disponible en: http://biblioteca.ucn.edu.co/repositorio/Documents/Agroindustria-Y-Forestales/23-Transformacion-aves-en-pie-para-obtencion-canales/documentos/01_02_47_calidad.pdf. Fecha de Consulta:22/05/2011.
32. Morshedy, A., E.; Sallam K. I. (2009). Improving the microbial quality and shelf life of chicken carcasses by trisodium phosphate and lactic acid dipping. *International Journal of Poultry Science* 8 (7): 645-650.
33. Mossel, D. A. (2003) *Microbiología de los alimentos: fundamentos ecológicos para garantizar y comprobar la inocuidad y la calidad de los alimentos*. Zaragoza, Acribia. 375 p.

34. Northcutt, J. K., Cason, J. A., Smith, D. P., Buhr, R. J., Fletcher, D. L. (2006). Broiler carcass bacterial counts after immersion hilling using either a low or high volume of water. *Poultry Science* 85: 1802 – 1806.
35. Periago, M. J (2011). Microbiología e Higiene de los Alimentos, microorganismos marcadores: índices e indicadores. Significado y características. Aislamiento e identificación. Disponible en: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/higiene-inspeccion-y-control-alimentario/practicas-1/tema-1.pdf> . Fecha de Consulta: 4/8/2011.
36. Pepe. O., Blaiotta, G., Bucci, F., Anastasio, M., Aponte, M., Villani, F (2006). Staphylococcus aureus and Staphylococcal enterotoxin A in breaded chicken products: detection and behavior during the cooking process. *Applied and Environmental Microbiology* 72(11): 7057-7062.
37. Quiles, A., Hevia, M.L. (2005). Fisiologismo de la termorregulación en gallinas. Disponible en: http://www.produccionanimal.com.ar/produccion_avicola/26-fisiologismo-de-la-termorregulacion-en-gallinas.pdf. Fecha de consulta: 20/8/2011.
38. Reglamento Bromatológico Nacional (2005), Decreto N° 315/994, 2ª.ed. Montevideo, IMPO 1-CD-ROM.
39. Ricaurte, S.L. (2005) Problems of the fattening chicken of before and after the benefit – chicken in chanel. *Revista electrónica de veterinaria Redvet* 4(6), 16p. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n060605/060517.pdf>. Fecha de consulta: 31/05/2011.
40. Russell, S. M., Fletcher, D. L., Cox, N. A. (1995) Spoilage bacteria of fresh broiler chicken carcasses. *Poultry Science* 74(12):2041-2047.
41. Russell, S. M (1995). The effect of refrigerated and frozen storage on populations of mesophilic and coliform bacteria on fresh broiler chicken carcasses. *Poultry Science* 74(12):2057-2061.
42. Smith, D. P., Northcutt, J. K., Cason, J. A., Hinton, Jr. A, Buhr, R. J., Ingram, K. D. (2007). Effect of external or internal fecal contamination on numbers of bacteria on prechilled broiler carcasses. *Poultry Science* 86:1241–1244.
43. Smith, D. P., Cason, J. A., Fletcher, D. L., Hannah, J. F. (2007). Evaluation of Carcass scraping to enumerate bacteria on prechill broiler carcasses. *Poultry Science* 86:1436–1439.
44. Sofos, J. N. (1994) Microbial growth and its control in meat, poultry and fish. Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products. Vol 9. Glasgow, Blomm. 505 p.

45. Tuncer, B., Sireli, U.T. (2008) Microbial growth on broiler carcasses stored at different temperatures after air-or water chilling. *Poultry Science* 87(4):793-799.
46. USDA, Food Safety Inspection Service (1996). Pathogen reduction: hazard analysis and critical control point (HACCP) systems; final rule. 9CFR Part 304. Fed. Regist. 61:38806– 38989. Disponible en:
<http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FRPubs/93-016F.pdf>. Fecha de consulta: 20/8/2011.
47. USDA, Food Safety Inspection Service (2011). Quantitative analysis of bacteria in foods as sanitary indicators. Disponible en:
www.fsis.usda.gov/PDF/MLG_3_01.pdf . Fecha de consulta: 17/8/2011.
48. Vanegas, L. M., González, G. L., Martínez L. A., Buitrago, F. (2008). Aislamiento y caracterización de cepas de *Staphylococcus enterotoxigénicos* en Bogota. Disponible en:
<http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/693/69311191003.pdf>. Fecha de consulta: 20/8/2011.