



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

“DETECCIÓN DE *LISTERIA SPP* EN CARNE DE CERDO  
PROVENIENTE DE UN RASTRO TIF, MEDIANTE PRUEBAS  
RÁPIDAS Y, EN SU CASO, DETERMINAR SI LOS ÁCIDOS  
PARACÉTICO Ó LÁCTICO CON SULFATO CÁLCICO SON  
CAPACES DE INHIBIR SU CRECIMIENTO”

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA:

**SANDRA GARCÍA PEDRAZA**

ASESOR

M.A. JORGE LÓPEZ PÉREZ



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## ÍNDICE

Resumen.....	3
I. Introducción.....	5
Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).....	6
<i>Listeria spp</i> .....	8
Listeriosis.....	11
Sistema TIF.....	13
Carne.....	19
Descontaminación de la carne.....	22
Ácidos orgánicos.....	24
Ácido paracético.....	27
Ácido láctico.....	28
Métodos microbiológicos rápidos.....	29
II. Objetivos.....	33
Hipótesis.....	33
III. Materiales y Métodos.....	34
IV. Resultados.....	43
V. Discusión.....	44
VI. Conclusión.....	50
VII. Recomendaciones.....	51
VIII. Referencias.....	52

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla I.</b> Parámetros de las características de la carne y del crecimiento de <i>Listeria</i> .	22
<b>Tabla II.</b> Características de los ácidos acético y láctico.....	24
<b>Tabla III.</b> Resultados de VIP® para <i>Listeria</i> .....	32
<b>Tabla IV.</b> Agentes biológicos que constituyen riesgo alimentario.....	36
<b>Tabla V.</b> Programas de muestreo recomendados para combinaciones de diferentes grados de peligrosidad para la salud y diversas condiciones de manipulación.....	37
<b>Tabla VI.</b> Probabilidades de aceptación ( $p_a$ ) para los programas de atributos de dos y tres clases cuando el lote analizado contiene 5%, 20% ó 50 % de unidades de muestra $> m^*$ .....	40
<b>Tabla VII.</b> Resultados.....	43

## RESUMEN

*Listeria monocytogenes*, considerado un patógeno emergente y ubicuo, es un riesgo creciente para la salud pública debido a su ocurrencia, como enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). Dadas las características antes mencionadas es esencial llevar a cabo actividades permanentes de vigilancia para detectar y luchar contra ella. Estos eran los objetivos del estudio que se realizó en una planta empacadora de carnes frías ubicada en la Ciudad de México. La carne utilizada provino de cerdos criados en el estado de Querétaro, sacrificados en un Matadero Tipo Inspección Federal (TIF) ubicado en el estado de Guanajuato y las canales fueron transportadas en refrigeración a 3-4 ° C hasta su destino final. El diseño del muestreo se realizó de acuerdo con las recomendaciones de la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas de los Alimentos (ICMSF).

Se trabajaron 60 muestras de 5.5 cm<sup>2</sup> x 1,5 cm de los músculos de la región del cuello, considerada la zona de más probable contaminación; se obtuvieron de un total de 3 lotes, (de 250 canales de cerdo). Se seleccionaron diez canales al azar para cada lote sin ningún tratamiento de descontaminación. La mitad de las muestras recogidas (grupo control) fueron utilizadas para detectar la presencia de *Listeria* y la otra se dividió en dos grupos (grupos de prueba): 15 que serían tratadas para probar el efecto inhibitor del ácido láctico con sulfato cálcico y las otras 15 con ácido paracético sobre *L. monocytogenes*, si se detectaba. Como en ese momento no se sabía si *Listeria spp* sería detectada, los tratamientos con ácidos se aplicaron a los grupos de prueba y después se mantuvieron las muestras tratadas en refrigeración a 4 ° C, de manera que si se detectaba *Listeria* pudiera ser posible evaluar su potencial efecto inhibitor como una medida de control en ese caso.

Se utilizó el ensayo visual inmunoprecipitante para la detección de *L. monocytogenes* y otras especies de *Listeria* en los alimentos, método aprobado por la AOAC 997.13, (Listeria VIP GOLD ®) para procesar las muestras del grupo control, por triplicado. Todas las muestras dieron negativo. Por lo tanto, no fue posible continuar con el estudio ni hubo evaluación estadística requerida. Estos resultados indican que estas carnes fueron fiables y podrían ser utilizadas para producir alimentos seguros.

## INTRODUCCIÓN

La inocuidad de los alimentos, adquiere paulatinamente mayor relevancia. En México, la Ley General de Salud considera a la inocuidad y a la higiene de los alimentos en el concepto de calidad sanitaria y ésta, a su vez, dentro del concepto de salubridad general <sup>1</sup>.

La trascendencia de la inocuidad y la higiene de los alimentos estriba en que éstos pueden ser causantes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) <sup>1</sup>.

Las ETA de origen bacteriano son las que con mayor frecuencia se reportan a nivel mundial. La lista de patógenos involucrados se ha incrementado notablemente; éstos incluyen: *Campylobacter jejuni*, *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio cholera* y *Salmonella*, entre otras.

*Listeria monocytogenes* es un microorganismo que no era considerado como un patógeno importante sino hasta hace relativamente poco tiempo debido a su transmisión a través de los alimentos.

Estos microorganismos son frecuentemente asociados con la contaminación por manipuladores de alimentos y con las materias primas crudas en el establecimiento. Algunos de éstos pasan naturalmente al ambiente donde los alimentos se procesan; muchos son inactivados por el tratamiento térmico y otros pueden ser controlados mediante prácticas adecuadas de manipulación y almacenamiento <sup>2,3</sup>.

Los factores principales para cumplir con la inocuidad en las carnes frescas procesadas son limitar la contaminación del producto y retardar o inhibir el crecimiento de microorganismos descomponedores o patógenos en los productos cárnicos, mediante descontaminación de las mismas, así como también mediante la aplicación de buenas practicas de manufactura y de procedimientos de limpieza y desinfección en las áreas de procesos <sup>4</sup>.

Se entiende por descontaminación a un tratamiento aplicado a la carne fresca con la finalidad de conseguir una reducción importante en el número de microorganismos patógenos y saprofitos presentes en las superficies de las canales, que llegaron durante las operaciones de despiece.

Algunas de las sustancias utilizadas como descontaminantes son los ácidos orgánicos que contribuyen al desarrollo de sabor, aroma y textura de los alimentos, pero también a su estabilidad mediante la inhibición del crecimiento de microorganismos alterantes <sup>5,6</sup>.

### **Enfermedades Transmitidas por Alimentos.**

Las ETA son una amenaza para la salud pública y aunque la mayoría son leves y se asocian con síntomas gastrointestinales agudos tales como diarrea y vómito, en algunas ocasiones son mucho más severas y peligrosas para la vida, especialmente en niños y en personas inmunodeprimidas <sup>7</sup>.

Existen tres formas de presentación de las enfermedades de transmisión alimentaria:

- Infecciones: Se da por la ingestión de alimentos que contienen microorganismos perjudiciales vivos, en las que el microorganismo invade y penetra la mucosa intestinal.
- Intoxicaciones: Ocurre cuando las toxinas de las bacterias están presentes en el alimento ingerido; por ejemplo, toxina botulínica, enterotoxina de *Staphylococcus*, micotoxinas, etc.
- Infección mediada por toxinas: Se da por la ingestión de alimentos con una cierta cantidad de microorganismos los cuales son capaces de producir o liberar toxinas una vez que son consumidos; por ejemplo, *Vibrio cholerae* y *Clostridium perfringens*

<sup>3</sup>.



La clasificación de las enfermedades con base en los síntomas que producen puede dar lugar a confusiones desde un punto de vista etiológico, debido a que varios microorganismos pueden producir enfermedades con síntomas clínicos similares. Frecuentemente, los patógenos de ETA se han podido conocer por la aparición de un gran número de casos de enfermedad con síntomas similares y una causa común (brote de enfermedad) o un número pequeño de casos.

Cuando ocurre un brote, los epidemiólogos examinan los alimentos sospechosos para aislar bacterias y compararlas con las obtenidas de pacientes, mediante técnicas de tipificación genética. Sin embargo, muchas ETA aparecen de forma esporádica (un solo paciente). La investigación epidemiológica es más complicada cuando aparecen casos esporádicos, debido a que el aislamiento del organismo causal del alimento es problemático. Los casos esporádicos suponen la mayor parte de las ETA en el mundo <sup>8</sup>.

Las bacterias patógenas presentes en los alimentos proceden de diversos orígenes, no limitados exclusivamente a las materias primas alimentarias. Aunque algunas de estas bacterias patógenas son zoonóticas, su presencia en los alimentos no se debe exclusivamente a la transmisión desde los animales portadores.

Los manipuladores de alimentos pueden ser portadores como consecuencia de una infección o por contaminación a partir de otros focos (por ejemplo por la presencia de *Listeria* en cañerías) y, por lo tanto, pueden ser una fuente de microorganismos patógenos. Muchas de las bacterias presentes en los alimentos proceden de los manipuladores, a través de heces, vómito, lesiones de la piel o mucosidades <sup>8</sup>.

A principios de 1980 la demostración de la listeriosis como una ETA fue una verdadera revolución en la infectología humana, en veterinaria y en la industria alimentaria. Lo que sucedió a fines del siglo pasado con la aparición de una gastroenteritis febril aguda en personas inmunocompetentes, modificó completamente lo descrito hasta el momento respecto de la sintomatología de la enfermedad, su periodo de incubación y el grupo de población susceptible.

A la problemática de la infección con *Listeria* de origen alimentario, debe incorporarse una nueva señal de alerta con motivo de los hallazgos citados en una publicación reciente (science febrero 4, 2004) donde se sugiere que *L. monocytogenes* puede evadir los mecanismos de defensa del hospedador ocultándose en la vesícula biliar de individuos sanos y, que cuando la vesícula vacía su contenido en el intestino como parte del fenómeno regular de la digestión de los alimentos, *L. monocytogenes* vuelve a colonizar el intestino; así se diseminaría la listeriosis de modo semejante a la fiebre tifoidea, a partir de los portadores <sup>9</sup>.

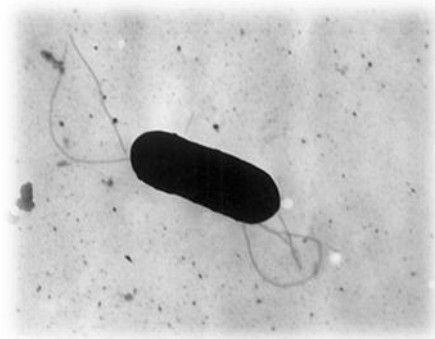
### ***Listeria monocytogenes.***

En el género *Listeria* existen varias especies como son: *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii* y *L. grayi*.

*Listeria monocytogenes* es reconocida generalmente como el principal patógeno para el hombre, sin embargo, *L. seeligeri* y *L. ivanovii* en raras ocasiones han estado implicadas en infecciones a personas <sup>10</sup>.

*L. monocytogenes* es un bacilo Gram positivo no esporulado, catalasa positivo; aerobio, microaerofílico y anaerobio facultativo; su tamaño es de 0.5  $\mu\text{m}$  de diámetro y de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de longitud.

Es un microorganismo móvil, por medio de 1 a 5 flagelos peritricos, los cuales se generan a temperaturas de 20°C a 25°C, siendo su motilidad mayor a temperatura ambiente que por incubación a 36-37°C, ya que a estas temperaturas son aflagelados o tienen sólo un flagelo y aparecen como inmóviles <sup>9,11</sup>.



Courtesy of the Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention; Elizabeth White

Es muy resistente a factores adversos. Tolera concentraciones de 10% de NaCl; incluso hay estudios de sobrevivencia con 20%. Resiste altas concentraciones de nitritos, ácidos y peróxido de hidrógeno.

El rango óptimo de temperaturas para su desarrollo es de 30 a 37°C pero pueden crecer en pocos días a 4°C; la temperatura máxima de crecimiento es de 45 a 50°C y la mínima es de -0.4°C; el rango de pH es de 4.1 - 9.6, en pH alcalino permanece viable cierto tiempo pero sin multiplicarse <sup>10</sup>.

*L. monocytogenes* es un microorganismo muy resistente a la desecación, produce biopelículas muy persistentes en las industrias agroalimentarias; puede sobrevivir hasta 1 año en concentraciones del 16% de NaCl, 500 días en tierra húmeda y en heces o en aguas residuales a temperatura ambiente resiste más de un año <sup>9,10,12</sup>.

#### Distribución.

*L. monocytogenes* es una bacteria ubicua; es de amplia distribución geográfica y se halla en la naturaleza, se ha encontrado en industrias agroalimentarias, cámaras frías, suelo, estiércol, pasturas, aguas residuales, polvo ambiental, ensilado, diversos animales de granja, pájaros, peces, crustáceos, insectos, tracto intestinal humano y de muchos animales domésticos. Hay estudios que demuestran que en humanos existe un 5% de portadores, el porcentaje se eleva entre los trabajadores de los mataderos <sup>8,9,12</sup>.

*L. monocytogenes* entra en las plantas de procesamiento de alimentos con la tierra de los zapatos de los trabajadores, con la ropa y con los vehículos, al igual que con la materia prima cruda contaminada y por portadores humanos. La elevada humedad y las grandes cantidades de nutrientes de las plantas procesadoras de alimentos promueven el crecimiento de listerias.

*L. monocytogenes* frecuentemente es detectada en áreas húmedas, como desagües, agua condensada y estancada, suelos, residuos y en el equipamiento; se adhiere a las superficies, incluyendo el acero inoxidable, el vidrio y la goma; por lo tanto es particularmente difícil de eliminar de las plantas de procesamiento de alimentos por lo

que existen numerosas oportunidades para la reintroducción de listerias en las instalaciones de procesado que previamente las habían erradicado <sup>13</sup>.

En el caso particular de la contaminación de las canales por *L. monocytogenes*, ésta llega por la contaminación fecal durante la matanza con un alto porcentaje (11 a 52%) de animales portadores; está presente en las zonas limpias y no limpias de los matadores, especialmente en aquellas donde se realiza el aturrido de los cerdos y el izado <sup>13</sup>.

La contaminación de la carne y sus productos con *L. monocytogenes* se ha puesto de manifiesto en numerosas ocasiones, tanto en canales enteras como despiezadas y lo mismo en las de rumiantes que en las de cerdos y aves.

Entre los productos cárnicos frecuentemente contaminados con *L. monocytogenes* destacan los siguientes: carne picada, pasta de salami, salchichas de pavo, mortadelas y otros fiambres. La contaminación más frecuente es la superficial, especialmente a nivel de matadero <sup>12</sup>.

Prevalencia y estatus regulador de *L. monocytogenes*.

Existe un debate internacional sobre cómo debería regularse *L. monocytogenes*, debido a que es muy común; las agencias reguladoras de numerosos países consideran imposible producir alimentos libres de este organismo, han establecido niveles de tolerancia para los productos que han causado listeriosis en humanos, los cuales están situados en una categoría especial y son regulados más estrictamente, por lo cual estos alimentos deben presentar la menor cantidad posible de este agente.

Otros alimentos pueden contener listerias en cantidad <100 UFC/g. Sin embargo, en el Reino Unido y Estados Unidos existe la tolerancia cero (en una muestra de 25g). Ambos países consideran que debe conocerse la dosis infecciosa de *L. monocytogenes* antes de establecer una cantidad aceptable; aunque la dosis puede que difiera en diferentes grupos de la población <sup>13</sup>.

## Listeriosis.

En el ganado los primeros signos de Listeriosis son fiebre, pérdida de apetito y depresión. Aunque no siempre se presenta, el síntoma más notable es caminar en círculos, por lo que generalmente se le llama enfermedad circular. Otros síntomas son los movimientos incoordinados, parálisis progresiva y aborto con retención placentaria. En casos graves el animal muere dentro de los 2 ó 3 días después de la aparición de los síntomas, pero en otros puede sobrevivir por más de 2 semanas <sup>9</sup>.

En el caso particular de Listeriosis en humanos la población susceptible a la infección por *L. monocytogenes* incluye principalmente a mujeres embarazadas, neonatos, inmunocomprometidos, trasplantados renales y de medula, alcohólicos y diabéticos, aunque la enfermedad también puede cursar como infección no invasiva <sup>8,9</sup>.

Hay dos formas distintas de Listeriosis humana y ambas pueden ser transmitidas por alimentos.

- Listeriosis invasiva: Los signos clínicos son septicemia, meningitis, encefalitis y abortos espontáneos que suelen ocurrir en el tercer trimestre de gestación.
- Listeriosis no invasiva: Tiene un corto periodo de incubación (1 a 3 días) y cursa con síntomas entéricos como diarrea, fiebre moderada, dolor de cabeza y mialgia <sup>8</sup>.

En la Listeriosis invasiva *L. monocytogenes* atraviesa el epitelio intestinal, la bacteria se transporta a través de la sangre y el sistema linfático hasta el hígado y el bazo, siendo eliminada casi en su totalidad por los macrófagos. Sin embargo, cuando la respuesta inmunitaria en el hígado no es la adecuada, las células bacterianas se multiplican intracelularmente en los macrófagos y comienzan su diseminación de unas células a otras, provocando la muerte celular y extendiéndose al SNC, el corazón, los ojos y a los fetos <sup>8</sup>.

La dosis infectiva no se conoce, pero en los individuos inmunocomprometidos se estima que es baja  $>100$  UFC, por lo que no sería necesaria la multiplicación del microorganismo en los alimentos. En la Listeriosis no invasiva la dosis infectiva es más elevada  $>10^5$  UFC y es importante controlar la multiplicación del microorganismo en los alimentos <sup>8</sup>.

La principal causa de Listeriosis es la transmisión de *L. monocytogenes* a través de los alimentos, pero lo más importante es que, si bien la mayoría de los cuadros de la enfermedad causada por este microorganismo constituyen casos esporádicos, con frecuencia un largo periodo de refrigeración parece haber contribuido a la producción de los grandes brotes, los cuales recién comenzaron a ser detectados en la década de 1980.

La emergencia de la Listeriosis como ETA desde principios de la década de los 80 ha obligado a las autoridades de salud y de comercio; especialmente en los países industrializados; a implementar amplias campañas de divulgación para brindar información adecuada sobre los riesgos y cuáles son los grupos poblacionales más expuestos <sup>9</sup>.

La significación de *L. monocytogenes* como patógeno transmitido por alimentos es muy compleja, la gravedad y la letalidad de la enfermedad requieren medidas preventivas adecuadas, pero las características del microorganismo son tales que resulta irreal esperar que todos los alimentos estén libres de *Listeria*.

*L. monocytogenes* está presente en una amplia variedad de alimentos tanto crudos como procesados. Es capaz de sobrevivir y desarrollarse en muchas sustancias alimenticias durante el almacenamiento; inspecciones efectuadas en Inglaterra mostraron que el 6% de 18 000 muestras examinadas eran positivas con más de 1000 UFC/g; en otros estudios, hubo un 11% de muestras refrigeradas de los alimentos consumidos por los pacientes con listeriosis, que fueron positivas para *L. monocytogenes*, el 10% de esas muestras positivas tenían más de 100 UFC/g<sup>10</sup>.

Como ya se mencionó, la carne es uno de los alimentos en los cuales puede estar presente *Listeria*, es por ello que es importante conocer el proceso de obtención de la misma.

En México existe el sistema Tipo Inspección Federal (TIF) el cual tiene como objetivo mantener los procesos de obtención y procesamiento de la carne en un nivel sanitario elevado, así como obtener productos inocuos; sin embargo; también existen los rastros municipales los cuales están regulados y son verificados por la Secretaría de Salud (SSA).

Las normas: NOM-194-SSA1-2004, NOM-213-SSA1-2002, NOM-251-SSA1-2009; son de observancia obligatoria y a través de su cumplimiento se regula la obtención de productos inocuos, ya que establecen las especificaciones sanitarias que se deben cumplir.

Las normas que se deben de cumplir en el sistema TIF son: NOM-008-ZOO-1994, NOM-009-ZOO-1994, NOM-033-ZOO-1995 y NOM-120-SSA1-1994

A continuación se describe en qué consiste el sistema TIF lo cual es de suma importancia ya que el lugar donde se realizó el estudio es una planta TIF. Además se describe de manera breve cual es el proceso de obtención de la carne.

### **Sistema Tipo Inspección Federal.**

El Sistema TIF es un conjunto de preceptos, limitaciones, obligaciones y vigilancias del más elevado nivel sanitario, que ejerce el Gobierno Federal a través de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), de acuerdo con ciertas normas aceptadas internacionalmente, sobre los locales, su construcción, conservación e higiene; los procedimientos de inspección de los ganados de abasto y de las carnes que se obtienen de ellos; sobre la maquinaria, equipo, indumentaria y enseres que se utilizan en el proceso y obtención de las carnes, productos cárnicos y subproductos de las empresas que operan bajo él.

El fin de su creación es la obtención de carnes y productos cárnicos procedentes de animales de abasto para el consumo humano, lograda mediante la aplicación de las normas y condiciones de higiene más rigurosas, tanto para el mercado interno como para su exportación <sup>14</sup>.

La certificación TIF es un procedimiento de carácter voluntario que realizan las empresas productoras de alimentos cárnicos como son: rastros, emparadoras, frigoríficos, etc.

Proceso de sacrificio de los cerdos.

Tras la llegada de los animales al rastro se procede a la recepción de los mismos, en este punto el Médico Veterinario Oficial debe verificar el origen de los animales por medio de análisis de los documentos que acompañan el embarque; como son, certificado zoosanitario de movilización y constatar que se cumple con la información registrada en éste, tal como el número de animales, medio de transporte, fleje utilizado, identificación y origen de los animales; así como también deben traer los certificados establecidos por las campañas zoosanitarias vigentes, como enfermedad de Aujesky.

En caso de que un embarque no presente certificado zoosanitario o que los datos registrados en este certificado zoosanitario presenten discrepancias o presenten alteraciones, no se permitirá que los animales sean admitidos en el establecimiento o si es el caso que sean ingresados al sacrificio <sup>15,16</sup>.

En seguida se procede a revisar el transporte en sí, así como las condiciones en las que vienen los animales, el espacio requerido para los cerdos debe ser, por cada 100 kg de peso, una superficie de 0.45m<sup>2</sup> con una altura de 1 m <sup>17</sup>.



Posteriormente se inicia con la descarga de los cerdos, si es necesario se debe colocar una rampa para evitar lesiones en los animales al hacerlos pasar a los corrales de recibo. Durante el lapso de la descarga y el tránsito hacia los corrales se debe iniciar propiamente con la técnica *ante mortem*, que consiste en la observación de los animales en movimiento, con el objetivo de apreciar lesiones, claudicaciones o algún problema respiratorio. Dicha observación debe ser bilateral para después realizarse en estática.

Asimismo, y como parte de esta actividad, es importante vigilar el bienestar de los animales durante su estancia en el matadero, incluyendo el manejo al que son sometidos, el cual debe ser tal que evite lesiones, traumatismos o estrés. En esta etapa, especialmente es necesario supervisar el arreo y evitar el uso de palos, arreadores eléctricos, látigos o cualquier otro medio que lastime o estrese al animal. No debe usarse para el arreo de ganado ningún objeto que pueda causarles estrés innecesario o traumatismos <sup>15,16</sup>.

Si ya se ha llevado a cabo una inspección *ante mortem* y hay una demora de más de 24 hrs con respecto al sacrificio, se deberá volver a realizar la inspección *ante mortem*, de modo que ésta tenga lugar en un plazo no mayor a 24 hrs, antes del sacrificio.

Solo se procederá al sacrificio de los animales que han cumplido un periodo mínimo de 12 hrs y siempre posterior a la inspección *ante mortem*; el tiempo de reposo podrá reducirse a la mitad del mínimo señalado, cuando el ganado provenga de lugares cuya distancia sea menor de 50 km; el descanso es necesario con el fin de que sus condiciones fisiológicas sean óptimas y se asegure que no quedan ocultas signologías de enfermedades. En estos corrales se les proporcionará agua y, sólo si permanecen más de 24 hrs se les dará alimento <sup>15,16,18</sup>.

A los animales sospechosos se les separará para ser revisados de manera individual en una manga de manejo haciendo una exploración clínica completa.

- Estabulación y reposo: La finalidad de esta etapa es que los animales reposen durante un tiempo determinado en las instalaciones del matadero para que se recuperen de los efectos negativos del transporte y la descarga.

La capacidad de los corrales de recepción se calculará a razón de 1.2 m<sup>2</sup> por cabeza de porcino. Deberán contar con iluminación natural o artificial de 30 candelas como mínimo o equivalente, con bebedero y en el caso de que tengan que permanecer más de 24 horas deben contar con comederos. Las mangas deben ser de material anticorrosivo, de pisos impermeables y antiderrapantes, con declive que evite el estancamiento de líquidos. Deberán tener techo que cubra por lo menos el 50% de la superficie <sup>19</sup>.

- Inspección *ante-mortem*: En este punto un Médico Veterinario Zootecnista (MVZ) aprobado debe realizar la inspección ante-mortem en los corrales del rastro, con el objetivo de que ningún animal enfermo entre a la línea de sacrificio. La inspección ante-mortem se lleva a cabo desde que se descargan los animales hasta que son sacrificados tomando en cuenta los aspectos antes mencionados <sup>15</sup>.

- Insensibilización: En los cerdos se aplica la electroinsensibilización, la cual consiste en hacer pasar corriente eléctrica a través del cerebro, mediante combinaciones específicas de intensidad y tiempo; las constantes de operación a aplicar se deben ejecutar de acuerdo con las recomendaciones del fabricante del equipo. Cabe señalar que, si bien la normativa mexicana no precisa las constantes de operación, existen recomendaciones de la FAO al respecto las cuales indican que para el cerdo debe ser mínimo 1.25 amperios y máximo 125 voltios durante máximo 10 segundos <sup>15</sup>.

- Desangrado: Se debe realizar en un máximo de 20 segundos después de la electroinsensibilización; este paso se puede hacer en una mesa para inmediatamente después colgar el animal o bien colgar primero al animal y después realizar el corte, el proceso puede tardar 6 min <sup>15</sup>.
- Escaldado: Se realiza en un tanque con flujo continuo de agua a 60°-65°C, con el objetivo de dilatar el folículo piloso y así facilitar el depilado posterior. Durante el escaldado puede haber fugas de heces por el ano, la sangre sale por la herida de la degollación acumulándose en el agua la suciedad procedente de la piel y de las pezuñas <sup>20</sup>.
- Depilado: Los cerdos pasan por una máquina peladora que opera a base de cilindros con flagelos que al girar chocan entre ellos reteniendo cerdas en medio, lo que provoca la extracción de las mismas; posteriormente pueden pasar por flameado y por rasurado de forma manual dependiendo el rastro <sup>15</sup>.
- Raspado y Lavado: Las canales se raspan manual o mecánicamente y se lavan con agua a presión para retirar la materia orgánica, pelo y suciedad residuales <sup>20</sup>.
- Eviscerado: Se corta la piel hasta el tejido muscular sin lesionar dicho tracto y ya abiertas las cavidades se realiza el amarre del esófago y recto para evitar que el contenido intestinal contamine la canal. Después del corte se realiza la evisceración separando el estómago e intestino del corazón pulmones y tráquea los cuales se pueden poner en mesas. Puede o no cortarse la cabeza; durante este proceso se debe realizar la inspección *post-mortem* de las vísceras y de la canal. Posteriormente se procede a cortar la canal por la mitad (corte americano) o bien se realizan 3 cortes de modo que quede la columna vertebral completa para que se venda el corte conocido como espinazo <sup>15,18</sup>.

- Sellado: Una vez que se realizó la inspección de las vísceras y la canal se procede al sellado de las mismas.

Para el marcado de las canales y productos aprobados para consumo humano se utilizará tinta de color rojo; para productos aprobados para cocción tinta azul; en el caso de carne y productos de equino, se empleará tinta de color verde. Los productos decomisados deberán marcarse con tinta negra.

Las tintas empleadas serán indelebles y atóxicas con características iguales para todos los establecimientos. En el caso de vísceras, éstas serán marcadas con sello eléctrico. Los sellos para el marcado de las canales y vísceras serán metálicos con las siguientes dimensiones:

- Para canales será de 5.5 cm de largo por 4.5 cm de ancho; y
- Para vísceras será de 4.5 cm de largo por 3.5 cm de ancho.

Los sellos deberán contener las siglas T.I.F. antes de su número de clasificación <sup>18</sup>.

- Lavado: Se realiza con agua a presión, ya sea a temperatura ambiente o bien a 70°-90°C, también se puede utilizar un lavado con ácidos orgánicos para disminuir la carga bacteriana; posteriormente las canales son pesadas.
- Refrigeración: Las canales se mantienen en cámaras de refrigeración a una temperatura de 2-4°C para su posterior utilización <sup>15,18,21</sup>.
- Almacenamiento y transporte de canales: Las canales se almacenan en los mataderos para su procesamiento posterior. El control de la temperatura durante el transporte y el almacenamiento es fundamental para limitar el crecimiento bacteriano.

Después de la fase inicial de enfriamiento, la flora microbiana de las canales es una mezcla de mesófilos y psicrotrofos. Los tipos de microorganismos que crecerán y sus velocidades de crecimiento dependen de las temperaturas de almacenamiento y de la actividad de agua ( $A_w$ ) de la canal <sup>20</sup>.

#### Carne.

Es la estructura compuesta por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conjuntivo elástico, grasa, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos, de las especies animales autorizadas para el consumo humano (NOM-009-ZOO-1994).

La carne puede llegar a ser inaceptable para el consumo humano, porque el animal vivo tenga una enfermedad o una condición determinada, o bien porque se altere; la alteración tiene lugar *post mortem* tanto por degradación química, como por el crecimiento de microorganismos <sup>22</sup>.

Los microorganismos alterantes pueden provenir del exterior del animal, del intestino, o pueden también ser introducidos durante el sacrificio por el cuchillo que se emplea para el sangrado. En animales vivos sanos normalmente las bacterias del intestino no pueden invadir los tejidos circundantes y el sistema sanguíneo o, en cualquier caso, su crecimiento está controlado por la capa mucosa de la pared del intestino, por los anticuerpos de la sangre y por la fagocitosis llevada a cabo por las células del retículo endotelial, especialmente en los nódulos linfáticos; por lo tanto; normalmente los tejidos de los animales sanos son estériles.

La contaminación de la canal con contenido intestinal puede ocurrir por evacuación fecal, por regurgitación del contenido del estómago durante el sangrado, provocando la contaminación del cuello y la cabeza, durante el proceso de escaldado, por corte accidental de la pared intestinal durante la evisceración; sin embargo, la contaminación también puede provenir de las manos, ropa y utensilios de los operarios <sup>22</sup>.

Durante la refrigeración de las canales se observa un aumento progresivo de microorganismos que obedece, entre otras cosas, a la tolerancia a las bajas temperaturas, la disponibilidad de nutrientes, y a las condiciones especiales de temperatura,  $A_w$  y pH, estas variaciones en conjunto resultan decisivas para la multiplicación y desarrollo de los microorganismos <sup>21</sup>.

La carne por su propia naturaleza y origen es muy sensible a la alteración. Desde el punto de vista microbiológico la propiedad más importante es que la carne presenta un gran contenido de agua que corresponde a un  $A_w$  de aproximadamente 0.99, lo que permite el crecimiento de la mayoría de los microorganismos.

El músculo contiene aproximadamente un 75% de agua en la que hay disueltos una gran variedad de importantes sustratos de crecimiento y de otros micronutrientes, por lo tanto, es un medio muy apto para el crecimiento de una gran variedad de microorganismos, en especial bacterias a quienes favorecen las condiciones de  $A_w$  <sup>22</sup>.

El crecimiento de los microorganismos de la carne tiene lugar fundamentalmente a expensas de sus componentes solubles: carbohidratos, ácido láctico y aminoácidos. Las propiedades redox de la carne ejercen una gran influencia en su microbiología; el factor central es la respiración tisular que continua consumiendo oxígeno si existe y produciendo  $CO_2$ . Al cesar el aporte sanguíneo, el contenido de oxígeno y el potencial redox del músculo disminuyen gradualmente, llevando a la producción y acumulación anaeróbica de ácido láctico; la acidez desarrollada puede ser suficiente para reducir mucho el metabolismo tisular que, sin embargo, continua varios días a una velocidad (incluso a temperatura baja) que supera a la que el oxígeno puede difundir unos pocos milímetros en la carne; por lo tanto; la masa cárnica en unas pocas horas *post mortem* se convierte en anaerobia y permanece así, salvo una pequeña porción superficial ventilada de unos pocos milímetros de grosor, lo que se manifiesta porque tiene un color rojo más brillante y porque no se origina acidez <sup>20</sup>.

Consecuentemente, aunque en la superficie se desarrolle una flora aeróbica, en la carne solo pueden crecer los anaerobios o los anaerobios facultativos (algunos de los últimos sólo crecen con relativa lentitud). Debido a que pocos de estos microorganismos anaerobios se desarrollan fácilmente a temperaturas bajas, en la profundidad de la carne refrigerada lo hacen difícilmente, incluso después de transcurrido mucho tiempo.

En condiciones naturales el pH de la carne puede oscilar desde 7 que está muy cerca del óptimo de muchas bacterias patógenas y causantes de alteración, a valores próximos a 5; los próximos a 5.5 son por ello mismo desfavorables al desarrollo de muchas bacterias importantes y combinados con otros factores perjudiciales, tales como temperaturas bajas, pueden prevenir el crecimiento casi por completo <sup>20</sup>.

El pH de la carne es inversamente proporcional a la cantidad de ácido láctico producido por la glucólisis muscular después de la muerte: un pH de 7 corresponde prácticamente a una glucólisis nula o ausente; uno de 5.5 a aproximadamente al 1%. Las cantidades de ácido láctico dependen, a su vez, de la cantidad de glucógeno de los músculos en el momento de la muerte, que será baja si el músculo se ejercitó mucho antes de morir, en cuyo caso su pH último será relativamente alto y la musculatura presentará textura seca y firme y color oscuro. En el músculo que llega al sacrificio descansado todo o la mayor parte del glucógeno se convierte después gradualmente en ácido láctico, dando un pH último de aproximadamente 5.5 con aspecto y textura normales <sup>20</sup>.

En la Tabla I se muestran las necesidades de crecimiento de *Listeria* con respecto a las propiedades químicas que tiene la carne para favorecer su presencia en la misma.

**TABLA I. PARÁMETROS DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA CARNE Y DEL  
CRECIMIENTO DE LISTERIA**

<b>PROPIEDADES</b>	<b>CARNE</b>	<b>LISTERIA</b>
<b>TEMPERATURA</b>	2°C – 7°C	-0.4°C – 50°C
<b>pH</b>	5 – 7	4.1 – 9.6
<b>A<sub>w</sub></b>	0.95 – 0.99	0.83 – 0.92
<b>% NaCl</b>	7%	Max 20%

3,10,20,21

### **Descontaminación de la carne**

Se entiende por descontaminación a un tratamiento microbicida aplicado a la carne fresca con la finalidad de conseguir una reducción importante en el número de microorganismos patógenos y saprófitos (carga microbiana total) presentes en la superficie de las canales, despojos comestibles, despieces, etc., que llegaron durante las operaciones de sacrificio o despiece. Debe quedar claro desde el principio que la eventual utilización de estos tratamientos no supone que las prácticas higiénicas en los mataderos puedan ser menos exigentes sino que deberán seguir siendo fundamentales <sup>5</sup>.

Para entender cómo funcionan los tratamientos microbicidas es importante explicar cómo se encuentran las bacterias en la superficie de la canal.

Las bacterias patógenas o saprofitas se adhieren a la superficie de la carne en un proceso que se desarrolla en dos fases:

- La primera consiste en la retención de las bacterias en un film líquido sobre la superficie. La adherencia en esta fase inicial es reversible y está asociada con una interacción compleja entre las cargas y la hidrofobicidad de las células de la superficie de la carne. Cuando las bacterias están a  $\geq 50$  nm de la superficie, actúan únicamente las fuerzas de Van der Waals, mientras que cuando la



separación es de 10 – 20 nm entran en juego interacciones electrostáticas. La adherencia o adhesión se asocia también con interacciones de los apéndices externos de las células microbianas (flagelos, fimbrias, polisacáridos extracelulares) con receptores específicos de las superficies <sup>5</sup>.

- La segunda fase, que es irreversible, se caracteriza porque las bacterias forman exopolímeros (glicocálix). Estos polímeros extracelulares proporcionan un ambiente favorable para el crecimiento y la subsiguiente adherencia de más bacterias, otros microorganismos y restos, favoreciendo la formación de biopelículas en determinadas condiciones. La adherencia irreversible de las células microbianas a una superficie puede tener lugar entre 30 minutos y algunas horas, dependiendo de diversos factores, tales como tipo de bacteria y temperatura.

En la adherencia de las bacterias a la superficie de la carne influyen varios factores, tales como pH, tiempo de contacto, temperatura, medio, especie bacteriana, naturaleza de la superficie de contacto, densidad celular y osmolaridad <sup>5</sup>.

Además de su eficacia, por inactivación y/o arrastre de los microorganismos, los agentes descontaminantes no han de dejar residuos que puedan ser nocivos para la salud del consumidor, no han de modificar los caracteres organolépticos de la carne fresca y han de estar autorizados <sup>5</sup>.

Los procedimientos o métodos de descontaminación sobre los que existen más trabajos publicados pueden agruparse en tres categorías: físicos, químicos y microbiológicos.

En el caso particular de este trabajo sólo se hablará de los métodos químicos ya que son los que inicialmente se pensó usar en el proceso experimental.

Dentro de los métodos químicos se encuentran los ácidos orgánicos tales como láctico y paracético.

## Ácidos orgánicos.

Los trabajos iniciales sobre la utilización de ácidos orgánicos en la descontaminación de canales fueron llevados a cabo en la Facultad de Veterinaria de Utrecht en 1987.

### Propiedades.

Por su solubilidad, sabor y baja toxicidad los ácidos orgánicos de cadena corta son muy utilizados como conservadores o acidificantes, en la Tabla II se muestran las características de los ácidos láctico y paracético. Al considerar la posible utilización como conservadores de otros ácidos orgánicos es conveniente recordar que la actividad antimicrobiana suele ser superior a medida que se alarga la longitud de su cadena molecular. Sin embargo, los ácidos alifáticos de más de diez u once átomos de carbono poseen muy poca aplicación potencial debido a su muy baja solubilidad en agua <sup>20</sup>.

**TABLA II. CARACTERÍSTICAS DE LOS ÁCIDOS PARACÉTICO Y LÁCTICO**

	FORMULA	PK <sub>A</sub>	SOLUBILIDAD (G/100G)	INGESTIÓN DIARIA ACEPTABLE	CONCENTRACIÓN MÁXIMA NORMAL (MG/KG)
<b>ÁCIDO PARACÉTICO</b>	CH <sub>3</sub> COO <sub>2</sub> H	8.2	Muy soluble	Ilimitada	Ilimitada
<b>ÁCIDO LÁCTICO</b>	CH CHOHCOOH	3.1	Muy soluble	Ilimitada	Ilimitada

20

### Mecanismo de acción.

La actividad antimicrobiana de un ácido orgánico o su éster se debe a las moléculas no disociadas de este compuesto. Algunos ácidos orgánicos en su estado no disociado son muy solubles en las membranas celulares, únicamente los ácidos orgánicos lipofílicos muestran actividad antimicrobiana <sup>20</sup>.

Según una hipótesis, estos compuestos inhiben el crecimiento de los microorganismos, o los matan, por interferir con la permeabilidad de la membrana celular al producir un desacoplamiento en el transporte de sustratos y en la “fosforilización oxidativa” del sistema transportador de electrones. Este fenómeno da lugar a la acidificación del contenido celular, que es probablemente la principal causa de la inhibición y muerte de los microorganismos <sup>20</sup>.

Algunos ácidos orgánicos (láctico, acético, cítrico, paracético) son ácidos débiles, en solución una parte de ellos se encuentra disociada [H<sup>+</sup>] [A<sup>-</sup>] y otra no [HA]. Para entender el comportamiento de los ácidos débiles resulta útil el concepto de pK<sub>a</sub>, que se define como el logaritmo decimal del inverso de la constante de disociación K<sub>a</sub> del ácido. Si se conoce la concentración del ácido, su pH y pK<sub>a</sub>, se puede determinar la concentración del ácido no disociado presente en una solución <sup>23</sup>.

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

El pK<sub>a</sub> (pK<sub>a</sub> = al pH en el cual el 50% del ácido se halla no disociado) de los ácidos orgánicos empleados como conservadores se halla en el rango de pH de 3 – 5. Al bajar el pH de un alimento, aumenta la proporción de las moléculas no disociadas de un determinado ácido orgánico, aumentando de esta forma su efectividad como agente antimicrobiano; estas consideraciones limitan la utilidad de los ácidos orgánicos a aquellos alimentos con pH inferior a 5.5 <sup>20</sup>.

El pH afecta el grado de disociación siendo los ácidos no disociados más activos que los disociados; los primeros penetran en la célula por difusión y después se disocian en el interior lográndose la concentración inhibitoria cuando hay cierta cantidad de moléculas no disociadas, este punto se obtiene ya sea por aumento de moléculas o por disminución de pH. La mayoría de los ácidos orgánicos son eficientes a bajos pH y su efecto específico está relacionado con la capacidad de penetrar a la célula, la parte de la célula atacada, y la naturaleza del ataque <sup>24</sup>.

Por lo general, la utilización de ácidos orgánicos es compatible con la de otros conservadores o sistemas de conservación y de hecho muchas combinaciones poseen un efecto sinérgico. Por ejemplo, muestran mayor eficacia como inhibidores microbianos a medida que disminuye la temperatura de almacenamiento y mayor como microbicidas a medida que la temperatura aumenta.

La eficacia de los ácidos orgánicos como agentes antimicrobianos se mejora, generalmente, por los aniones que interfieren con la disociación de la molécula de ácido. Determinados cationes pueden también aumentar de una manera significativa la eficacia de los ácidos orgánicos aumentando la solubilidad del ácido en la membrana de la célula microbiana. Algunos microorganismos parecen poseer un sistema de transporte de ácidos orgánicos desde la célula, que es inducible y funciona mediante un aporte energético, lo que permite su crecimiento en presencia de elevadas concentraciones de ácidos.

La actividad de agua, el pH, el potencial redox, la disponibilidad de sustrato y el contenido graso, también afectan la eficacia de los ácidos.

De igual importancia para la selección de un determinado ácido orgánico es la microflora que se pretende inhibir o destruir, y así, por ejemplo, tiene importancia el número de microorganismos, el tipo, la resistencia relativa del microorganismo presente, así como su habilidad para crecer en las condiciones normales de uso y almacenamiento. Por lo tanto, la elección de un determinado ácido orgánico depende, no solo de las características inherentes al mismo, sino también de las condiciones microambientales y de almacenamiento del alimento <sup>20</sup>.

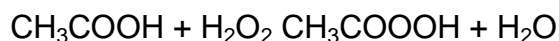
Para canales de mamíferos se aconseja el tratamiento, antes del enfriamiento, por duchado en cabinas especiales. La eficacia de los ácidos orgánicos es mayor a temperaturas de 50 – 55°C; las repercusiones negativas como cambios de color sólo se producen a concentraciones mayores del 2% <sup>5</sup>.

Existen varias limitaciones al valor como inhibidores microbianos de los ácidos orgánicos en los alimentos:

- Suelen resultar ineficaces cuando los niveles iniciales de microorganismos son elevados.
- Producen daños subletales en las bacterias de los que pueden recuperarse. Esto se refiere a la tolerancia obtenida por la exposición a un estrés, como el frío, lo que puede aumentar la tolerancia de las células hacia otros estreses, como el ácido. Esto se conoce como adaptación, respuesta al estrés, o tolerancia adquirida. Cuando las células están estresadas se producen unas proteínas especiales que son las responsables de la tolerancia adquirida. Algunas respuestas al estrés son específicas a un estrés determinado; otras confieren resistencia a un amplio rango de estresantes <sup>13</sup>.
- Muchos microorganismos utilizan los ácidos orgánicos como fuente metabolizable de productos carbonados.
- Existe una variabilidad inherente en cuanto a la resistencia de determinadas cepas.
- En determinadas condiciones de utilización, pueden resultar seleccionados los tipos de microorganismos resistentes <sup>20</sup>.

Ácido paracético.

Es un líquido incoloro, que presenta un poder oxidante mayor que el cloro o el dióxido de cloro; tiene un fuerte olor pungente de ácido acético; en solución al 1% su pH es aproximadamente de 3, se puede conseguir comercialmente en concentraciones entre 5-15%. Se deriva del ácido acético (CH<sub>3</sub>COOH) y del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), según la siguiente reacción:



Es bactericida, esporicida y fungicida, atraviesa la membrana citoplasmática de las células, oxidando sus componentes y destruyendo su sistema enzimático. Su impacto en el ambiente no es significativo pues se reduce a ácido acético, agua y oxígeno. Es considerado un aditivo alimenticio secundario según la norma 21CFR 173.370, FDA 2003. La USDA permite su uso sin declaración en la etiqueta. También se lo puede utilizar para desinfectar superficies de contacto directo con alimentos, según la norma de la FDA 21CFR 178.1010 <sup>23</sup>.

El ácido paracético y sus sales son muy eficaces como acidificantes y conservadores y son muy utilizados para estos propósitos. La presencia de 1 – 2 % de ácido acético no disociado en carne, pescado o, vegetales, suele inhibir o matar todos los microorganismos presentes. El crecimiento de la mayor parte de las bacterias causantes de enfermedades mediadas por toxinas se inhibe en concentraciones de 0.1 % <sup>20</sup>.

#### Ácido láctico.

Es un líquido incoloro o ligeramente café; obtenido a partir de la fermentación del azúcar, también se encuentra como componente natural de las carnes producido por la glucólisis *post-mortem*. Está incluido en la lista de los ingredientes GRAS (Generally Recognized As Safe) reconocidos generalmente como seguros de la FDA (Food and Drug Administration). Este ácido tiene, por lo general, solamente una actividad antimicrobiana moderada y excepto a bajos valores de pH, no resulta eficaz como inhibidor.

El ácido láctico existe en una gran variedad de alimentos; a un pH adecuado, sus propiedades bactericidas no afectan negativamente a los atributos sensoriales del alimento, lo que ha llevado a algunos autores a concluir que éste es adecuado para ser utilizado como descontaminante de carnes frescas, reduciendo específicamente la contaminación por enteropatógenos y extendiendo la vida de anaquel. La carne no se decolora a concentraciones aproximadamente de 1% de ácido láctico, a pH de 2.4, y hasta 2% no causa sabores residuales <sup>24</sup>.

Tales tratamientos dan como resultado una reducción significativa de la microflora por: disminución del pH y la acción específica del ácido en la forma no disociada <sup>24</sup>. Las pruebas microbiológicas permiten saber si un alimento es inocuo y son aplicables con la finalidad de evitar la transmisión de ETA y evaluar las BPM (Buenas Practicas de Manufactura) aplicadas en la planta al producto terminado.

### **Métodos microbiológicos rápidos.**

Los alimentos son complejas matrices de grasas, carbohidratos, proteínas, conservantes y otros compuestos químicos. También varían según su naturaleza física: solidos, secos, líquidos, o semi-sólidos. Estos atributos, colectivamente, pueden dificultar el procesado de una muestra para su análisis.

Incluso una vez superados los obstáculos asociados con el procesado de una muestra, a menudo los patógenos transmitidos por alimentos están presentes en cantidades extremadamente bajas, complicando aún más su proceso de detección. Se han desarrollado una serie de métodos microbiológicos rápidos que disminuyen el tiempo necesario en la detección e identificación de ciertos microorganismos diana en alimentos <sup>13</sup>.

La base para garantizar al consumidor la disponibilidad de alimentos inocuos, está en analizar los alimentos en busca de patógenos y microorganismos alterantes. Los métodos analíticos convencionales, a pesar de no faltar de sensibilidad y eficacia-costo, pueden resultar laboriosos y requerir varios días para conocer los resultados, no obstante son los señalados en la normativa aplicable a México y por lo mismo son las que tienen validez oficial.

Los análisis rápidos están basados en métodos inmunológicos, bioquímicos, microbiológicos, moleculares y serológicos de aislamiento, detección, recuento, caracterización e identificación <sup>13</sup>.

Sin embargo y por las razones que se exponen adelante, la planta donde se hizo este trabajo esta autorizada en proveer uno de estos procedimientos para ver si les resulta valido y confiable emplear estos métodos para su control interno de rutina.

El tiempo requerido para finalizar los diferentes análisis varía enormemente. “Rápido” puede implicar, segundos, minutos, horas, o incluso días. Cuando se considera si un análisis es rápido o no lo es, se deben tomar en cuenta todos sus pasos y no únicamente el tiempo empleado en el test en sí mismo <sup>13</sup>.

En general, los patógenos transmitidos por alimentos están presentes en bajas cantidades en los alimentos. Así pues, los métodos mas rápidos incluyen preenriquecimiento, enriquecimiento o también un enriquecimiento selectivo si fuera necesario; para facilitar la detección del patógeno diana.

Los test rápidos presentan limites de detección entre  $10^3$  y  $10^5$  UFC/ml; así pues, el enriquecimiento aumenta la probabilidad de detectar bajas cantidades de un “organismo diana” <sup>13</sup>.

Para desarrollar un método fiable, se necesita conocer la información básica del microorganismo diana, que facilitará la identificación de aquellas características únicas que pueden aprovecharse en la detección rápida. La piedra angular de cualquier método es su precisión. Esta consiste en la sensibilidad, o la capacidad del test para detectar números bajos del microorganismo y de la especificidad, o su capacidad de diferenciar el microorganismo de interés de otros microorganismos.

A pesar de que el método seleccionado pueda ser rápido y capaz de ser finalizado en un periodo de tiempo aceptable para una operación determinada, deben también considerarse otros factores, que incluyen la velocidad del procesado de la muestra, la precisión y el coste. En cuanto a la velocidad, los test de diagnósticos únicos serán aceptables únicamente si se deben realizar escasas pruebas. En caso de tener que procesar grandes cantidades de muestras, la mejor opción puede ser un sistema de alto rendimiento, aunque el coste sea mayor <sup>13</sup>.



Por último cabe mencionar que la microbiota natural de la muestra y otros residuos también pueden afectar la precisión del método. Finalmente, el método debe ser aceptado por la industria y las agencias gubernamentales.

En el presente trabajo se utilizó la prueba rápida VIP Gold for *Listeria*, la cual está basada en la tecnología del inmunoensayo que es aceptable para la identificación de bacterias específicas asociadas a gran variedad de alimentos.

Los anticuerpos utilizados en este sistema detectan numerosas células diana (anticuerpos policlonales) o bien, dianas específicas (anticuerpos monoclonales). El uso de anticuerpos monoclonales debería eliminar algunos de los problemas asociados a la reacción cruzada con bacterias distintas al organismo diana. Los sistemas varían de simplemente mezclar microesferas cubiertas de anticuerpos con la muestra a analizar, a un proceso de varias etapas que incluye la adición de un anticuerpo marcado con enzima a un pocillo, seguida por incubación, lavado y adición de un cromógeno que actuará de sustrato y que podrá ser detectado visualmente. Los típicos límites de detección de estos sistemas varían, entre  $10^3$  y  $10^5$  UFC/ml<sup>13,25</sup>.

El método de Inmunoensayo VIP® consta de lo siguiente: anticuerpos con una alta especificidad hacia los antígenos de *Listeria monocytogenes* y otras especies de *Listeria*, los cuales están unidos a un portador cromatogénico y separados por una matriz sólida de soporte. Estos reactivos se encuentran en un dispositivo que produce una reacción visual que determina la presencia de *Listeria*.

Durante la hidratación inicial del dispositivo, *Listeria* reacciona con el conjugado contenido en la prueba. El complejo antígeno-anticuerpo cromógeno es formado cuando los fluidos cruzan la membrana lateral del dispositivo, después los anticuerpos son inmovilizados sobre la membrana; si *Listeria* está presente, la línea de detección se posicionará a través de la membrana sólida en la ventana de la prueba. La formación de una línea indica una reacción positiva, si se visualiza una segunda línea de control paralela a la primera indica que la prueba ha sido

completada satisfactoriamente; en ausencia de la primer línea se considera una prueba negativa.

La validación de la prueba VIP® se hizo con el análisis de veinte diferentes tipos de alimentos representativos como, hueso molido, ensalada de col, carnes cocidas, productos lácteos, productos de huevo, frijoles, nueces, pasta, carnes crudas (aves y cerdo), y mariscos; la validación se hizo comparando esta prueba con el método tradicional.

Se procesaron y confirmaron un total de 780 muestras y controles. Los resultados se muestran en la Tabla III, los cuales indican que la prueba VIP® fue equivalente al método tradicional para todos los alimentos muestreados, con la excepción del camarón crudo, donde VIP® fue significativamente más sensible <sup>25</sup>.

**TABLA III. RESULTADOS DE VIP® PARA LISTERIA**

	<b>VIP para Listeria</b>	<b>Medio de cultivo de referencia BAM/USDA</b>
<b>Tasa de falsos negativos</b>	4.2%	7.3%
<b>Tasa de falsos positivos</b>	0.05%	2.4%
<b>Sensibilidad</b>	95.8%	92.7%
<b>Especificidad</b>	99.95%	97.6%

25

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

- Detectar la presencia de *Listeria spp* en carne de cerdo proveniente de un rastro TIF, obtenida, conservada y manejada de acuerdo con la normativa aplicable y en caso positivo determinar si los ácidos paracético o láctico con sulfato cálcico son capaces de inhibir su crecimiento.

### OBJETIVO PARTICULAR

- Detectar *Listeria spp* mediante la prueba de ensayo visual inmunoprecipitante para la detección de *Listeria monocytogenes* y otras especies de *Listeria* presentes en los alimentos.
- Determinar si los ácidos paracético o láctico con sulfato cálcico son capaces de inhibir el crecimiento de *Listeria spp*.

## HIPOTESIS

- Si se muestrea carne de cerdo proveniente de un rastro TIF, obtenida, conservada y manejada de acuerdo con la normativa aplicable, no se podrá detectar *Listeria spp* mediante pruebas rápidas.
- Si el ácido paracético y/o el ácido láctico con sulfato cálcico son capaces de inhibir *Listeria spp*, entonces las pruebas rápidas manifestaran resultados negativos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MATERIALES

- Bolsas estériles
- Mortero con pistilo
- Probetas
- Pipetas de 1 ml
- Pipetas de 5 ml
- Pipetas de 10 ml
- Matraces de 500 ml
- Tubos de ensayo
- Cuchillo estéril
- Tenedor estéril
- Guantes estériles
- Cubrebocas
- Cofia
- Agua destilada
- Medio en polvo para agua peptonada
- Medio en polvo para Demi Fraser

### Biológicos

- Carne de cerdo

### Químicos

- Ácido Láctico (Sulac-02) al 80%
- Ácido Paracético (Titan-15) al 15%

## Equipo

- Incubadora
- Balanza
- Agitador
- Bombas de aspersión
- Autoclave
- Espátula
- Mechero
- Torundas de alcohol
- Kit VIP Listeria

## MÉTODO

En el presente estudio la prueba rápida que se utilizó es cualitativa; lo cual quiere decir que los resultados obtenidos indicarían solo la ausencia o presencia del microorganismo; la prueba indicada fue el ensayo visual inmunoprecipitante para la detección de *Listeria monocytogenes* y otras especies de *Listeria* presentes en los alimentos, método aprobado por la AOAC 997.13 <sup>25</sup>.

### • Muestreo

Para obtener el programa de muestreo, se buscó la clasificación de *Listeria monocytogenes* en la Tabla IV: Agentes biológicos que constituyen riesgo alimentario, recomendada por la Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (ICMSF); de acuerdo con esta tabla *Listeria monocytogenes* es ubicada en el grupo II el cual contiene a los microorganismos considerados como de riesgo moderado y de difusión importante <sup>20</sup>.

**TABLA IV. CLASIFICACIÓN DEL I.C.M.S.F PARA AGENTES BIOLÓGICOS QUE CONSTITUYEN RIESGO ALIMENTARIO**

<b>GRUPO I</b> <b>(Riesgo severo)</b>	<b>GRUPO II</b> <b>(Riesgo moderado y difusión importante)</b>	<b>GRUPO III</b> <b>(Riesgo moderado y difusión limitada)</b>
<i>C. botulinum</i>	<b><i>L. monocytogenes</i></b>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>S. dysenteriae</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>
<i>S. typhi</i>	<i>Shigella spp</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>S. paratyphi</i>	<i>E. coli</i> enteropatógena	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Virus hepatitis A y E</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Vibrio cholerae</i> no 01
<i>Brucella spp</i>	<i>Rotavirus</i>	<i>Vibrio parahemolyticus</i>
<i>Vibrio cholerae</i> 01	<i>Virus Norwalk</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Vibrio vulnificus</i>	<i>E. histolytica</i>	<i>Giardia lamblia</i>
<i>Taenia solium</i>	<i>D. latum</i>	<i>Taenia saginata</i>
<i>Trichinella spiralis</i>	<i>Ascaris lumbricoides</i>	
	<i>C. parvum</i>	

20

Una vez obtenido el grupo al cual pertenece *Listeria*, se utilizó la Tabla V Programas de muestreo recomendados para combinaciones de diferentes grados de peligrosidad para la salud y diversas condiciones de manipulación de la misma Comisión (ICMSF); ya que *Listeria monocytogenes* corresponde con la categoría de grado de peligro: Peligro moderado directo, difusión extensa y, tomando en cuenta las condiciones en la que se espera sea manipulado y consumido el alimento después del muestreo. Para este caso, por tratarse de carne de cerdo destinada a la elaboración de derivados cárnicos cocidos, la columna correspondiente es la que tiene por nombre “condiciones que reducen el peligro”, lo que ubica el cruce de ambas en la celda que contiene a la categoría 10, de donde se determinó que el programa de muestreo fuera de dos clases con un valor de  $n=5$  y  $c=0$ , donde  $n$  es el número de muestras que se van a tomar por cada lote analizado y  $c$ , es el número de muestras positivas que se permiten, que para este microorganismo es inaceptable que hubiera un número mayor; de lo contrario el lote sería rechazado <sup>20</sup>.

**TABLA V. PROGRAMAS DE MUESTREO RECOMENDADOS PARA  
COMBINACIONES DE DIFERENTES GRADOS DE PELIGROSIDAD PARA LA  
SALUD Y DIVERSAS CONDICIONES DE MANIPULACIÓN**

Grado de peligro	Condiciones en las que se espera sea manipulado y consumido el alimento después del muestreo		
	Condiciones que reducen el peligro	Condiciones que no modifican el peligro	Condiciones que aumentan el peligro
Sin peligro directo para la salud, vida de anaquel, alteración	Aumento de vida de anaquel CATEGORÍA 1 3 clases n = 5, c = 3	Sin modificación CATEGORÍA 2 3 clases n = 5, c = 2	Disminución de vida de anaquel CATEGORÍA 3 3 clases n = 5, c = 1
Peligro para la salud bajo, indirecto (indicadores)	Disminución de peligro CATEGORÍA 4 3 clases n = 5, c = 3	Sin modificación CATEGORÍA 5 3 clases n = 5, c = 2	Aumento de peligro CATEGORÍA 6 3 clases n = 5, c = 1
Peligro moderado directo, difusión limitada	CATEGORÍA 7 3 clases n = 5, c = 2	CATEGORÍA 8 3 clases n = 5, c = 1	CATEGORÍA 9 3 clases n = 10, c = 1
Peligro moderado directo, difusión extensa	CATEGORÍA 10 2 clases n = 5, c = 0	CATEGORÍA 11 2 clases n = 10, c = 0	CATEGORÍA 12 2 clases n = 20, c = 0
Peligro grave directo	CATEGORÍA 13 2 clases n = 15, c = 0	CATEGORÍA 14 2 clases n = 30, c = 0	CATEGORÍA 15 2 clases n = 60, c = 0

20

Como uno de los objetivos del trabajo fue que si se detectaba la presencia de *Listeria*, se evaluaría la capacidad de los ácidos paracético y láctico con sulfato cálcico para la disminución o inhibición de su crecimiento y teniendo en cuenta este posible hecho; la toma de muestras (n=5 y c=0) se realizó por duplicado para poder trabajar en cada lote con un control (sin ácido) 5 para cada uno de los ácidos; es decir un total de 10 muestras, y 5 muestras mas con ácido, es por ello se tomaron un total de 20 muestras por lote.

Ya que se obtuvo el programa de muestreo fue necesario definir que se iba a considerar como lote que se iba a trabajar, teniendo en cuenta que un lote es la cantidad de alimento o unidades de alimento producidas y manipuladas bajo condiciones uniformes y, que la mayor parte de los casos, la distribución de microorganismos dentro de los lotes es homogénea <sup>13</sup>.

Para el presente trabajo se consideró que como a la empacadora llegaban 250 canales por semana los días miércoles, esto se estableció como un lote.

Teniendo en cuenta que no se puede trabajar el lote completo se procedió a obtener la cantidad de muestras que se iban a trabajar en el lote, y para esto fue necesario entender lo siguiente.

Si en el alimento analizado existe un número relativamente elevado de los microorganismos cuya presencia se pretende detectar, es de esperar que un número relativamente elevado de los análisis ofrezca un resultado positivo. Pero si el número de microorganismos es escaso cabe esperar que la cantidad de análisis con resultado positivo sea pequeña. En estos dos casos, la probabilidad de obtención de un resultado positivo sería, respectivamente, alta y baja.

La probabilidad de obtener un resultado positivo es el número de veces que el resultado es positivo dividido entre el número de veces que se analiza el alimento como se muestra en la figura 1.

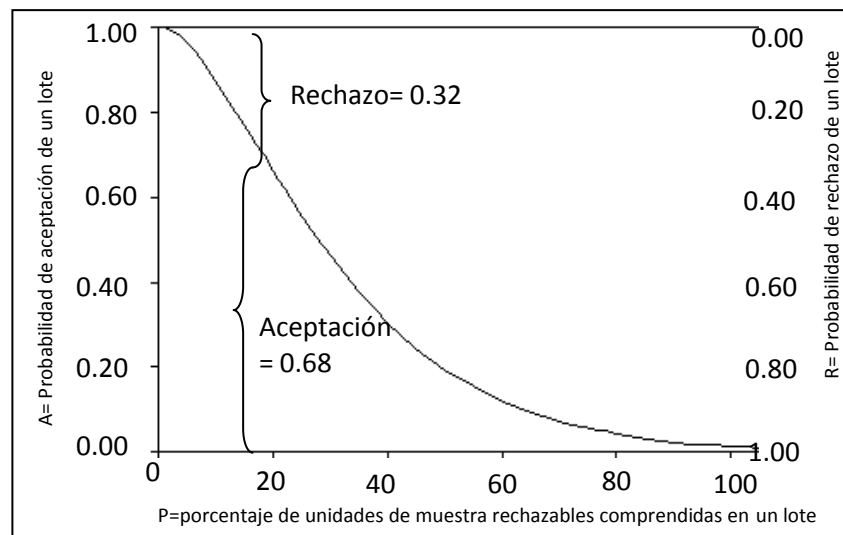


FIGURA 1. Curva de característica de operación. I.C.M.S.F. 1985.



En un principio se pretendía realizar el muestreo en un periodo de 3 meses con el objetivo de evaluar una estación del año; lo que dio un total de 12 lotes que se tomaron como referencia para obtener el número de lotes a muestrear. Por cuestiones de tiempo ya no se trabajaron los 3 meses sino solo un mes; sin embargo, se tomaron como referencia los 12 lotes.

Otra de las razones por la que se decidió seguir con ese número de lotes es porque en la planta donde se realizó el estudio ya existían registros de análisis anteriores para *Listeria*, y como los resultados fueron negativos; entonces era viable trabajar con ese número de muestras.

En la Tabla VI se muestran las probabilidades de aceptación para programas de muestreo de dos o tres clases; si se considera que el valor de  $n= 5$  y  $c=0$  y, que nuestro programa de muestreo es de dos clases, entonces la probabilidad de aceptación es de 0.77, por lo tanto la probabilidad de rechazo sería de 0.23. La probabilidad de rechazo es la que se toma en cuenta; de esta manera, el estudio abarcó los lotes que de acuerdo con esa probabilidad pudieran ser rechazados.

Tomando entonces la probabilidad de rechazo que se muestra en la tabla V, y el programa de muestreo que se eligió; el número de lotes que se analizaron fue de 3.

Probabilidad de rechazo 0.23 X # total de lotes= 12  $\longrightarrow$  2.76 = 3 lotes

TABLA VI. PROBABILIDADES DE ACEPTACION ( $P_a$ ) PARA LOS PROGRAMAS DE ATRIBUTOS DE DOS Y TRES CLASES CUANDO EL LOTE ANALIZADO CONTIENE 5%, 20% Ó 50 % DE UNIDADES DE MUESTRA  $> m$ .

*Programas de muestreo apropiados*

Programa de muestreo		50% > m									
		20% > m			50% > m						
		Programa de 3 clases		Programa de 2 clases		Programa de 3 clases					
n	c	0%>M	5%>M	10%>M	20%>M	0%>M	10%>M	20%>M	0%>M	25%>M	50%>M
5	0	0,77	0,77	0,33	0,33	0,33	0,33	0,03	0,03	0,03	0,03
5	1	0,98	0,77	0,74	0,33	0,53	0,33	0,19	0,19	0,11	0,03
5	2	1,00	0,77	0,94	0,33	0,58	0,33	0,50	0,50	0,19	0,03
5	3	1,00	0,77	0,99	0,33	0,59	0,33	0,81	0,81	0,23	0,03
10	0	0,60	0,60	0,11	0,11	0,11	0,11	<	<	<	<
10	1	0,91	0,60	0,38	0,11	0,24	0,11	0,01	0,01	0,01	<
10	2	0,99	0,60	0,68	0,11	0,32	0,11	0,05	0,05	0,02	<
10	3	1,00	0,60	0,88	0,11	0,34	0,11	0,17	0,17	0,03	<
15	0	0,46	0,46	0,04	0,04	0,04	0,04	<	<	<	<
20	0	0,36	0,36	0,01	0,01	0,01	0,01	<	<	<	<
60	0	0,05	0,05	<	<	<	<	<	<	<	<

\* Nótese que cualquier % > M está incluido en el % > m; por ejemplo, si el 20% > m y el 10% > M, se deduce que el 10% está entre m y M.  
 « < » significa que  $P_a < 0,005$

Para la recolección de las muestras se tomaron en cuenta diversos factores.

- En el matadero de donde se obtuvieron las canales se desinfectan habitualmente, por lo cual para efectos del estudio se solicitó que a 12 no se les aplicara desinfectante y fueran identificadas; de las cuales 10 fueron muestreadas y las 2 restantes solo se utilizaron para separarlas de las desinfectadas en el rastro. Se utilizaron un total de 30 canales correspondientes a 3 lotes distintos.
- Las canales llegaban a la planta los miércoles por la tarde, mantenidas en refrigeración a 4°C y eran descargadas los jueves por la mañana. Una vez que se descargaron se ubicaron las que no tenían desinfectante y se procedió a la toma de las muestras en la región del cuello.
- Las muestras se tomaron con guantes, cuchillos y tenedores estériles; una vez obtenido el corte de la carne de aproximadamente 5cm<sup>2</sup> y una profundidad de 1.5 cm, se colocaron en una bolsa estéril, la cual fue identificada con el número de la canal para su proceso posterior.
- Los muestreos se hicieron durante un mes; donde la segunda semana fue en la única en que no se realizó ningún muestreo ya que en el rastro les aplicaron desinfectante a todas las canales y por lo tanto no fue posible la toma de muestra.
- Se obtuvieron las muestras control (sin ácido), y se trasladaron al laboratorio para su posterior proceso; cabe mencionar que la planta cuenta con su propio laboratorio y fue ahí donde se procesaron todas las muestras.
- Posteriormente se aplicó el ácido paracético al 15% de la marca Diken (Titan-15), se prepararon de 5 lt de solución de la siguiente manera: 1.33 ml ácido paracético en 1 litro de agua teniendo una concentración de 0.019% del ácido, que posteriormente se aplicó a 5 canales por medio de aspersion con una bomba de una capacidad de 5 litros.

Se preparó una solución de ácido láctico con sulfato cálcico (Chemital – Sulac – 02 al 80%) empleando 3 ml de ácido láctico en 1 litro de agua, teniendo una

dilución de 0.24% del ácido; para el que se utilizó otra bomba con la misma capacidad, esta solución se le aplicó a las 5 canales restantes.

- Después de 3 horas de aplicado el desinfectante se procedió a la toma de muestras (con ácido) en la misma región del cuello; estas muestras fueron conservadas en refrigeración, en espera de los resultados de las muestras control (sin ácido).

Cabe mencionar que las 3 horas que se esperaron para tomar las muestras con ácido fueron porque se estaban procesando las muestras sin ácido; ya que el tiempo recomendado de espera por el fabricante es de 15 minutos mínimo para el ácido paracético y de efecto al contacto con el ácido láctico.

La conservación de las muestras con ácido en refrigeración se realizó debido a que los resultados de la prueba VIP se obtendrían hasta el tercer día después de la toma de muestras; por lo que si se hubiera tenido un resultado positivo las condiciones de las muestras habrían cambiado debido a la naturaleza de la carne; con el fin de disminuir esas variaciones se tomó la decisión de tomar las muestras control (sin ácido) y con ácido el mismo día y conservar estas en refrigeración en espera de los resultados de las muestras control, con la posibilidad de ser procesadas posteriormente.

Sin embargo ya que los resultados fueron negativos, se realizó la inactivación de las muestras por medio de cloro y posteriormente se dispuso de ellas.

Para el procesamiento de las muestras se continuó con la metodología recomendada por el fabricante. Cabe mencionar que cada muestra se hizo por triplicado con el fin de tener un nivel de confianza mayor, por lo que se realizaron un total de 90 pruebas VIP.

## RESULTADOS

Como ya se mencionó, la prueba que se utilizó fue cualitativa por lo tanto los resultados expresados para la prueba sólo son ausencia o presencia.

Los resultados se leyeron de la siguiente manera; si en el kit VIP se observaba solo una línea de color rojo entonces indicaba la ausencia de *Listeria*, al igual que el correcto funcionamiento de la prueba ya que es una línea control; cuando se observaban dos líneas paralelas de color rojo entonces indicaba la presencia de *Listeria*; es por esta razón que la prueba sólo es cualitativa ya que no indica la cantidad que se encuentra en el alimento. Sin embargo cabe mencionar que la prueba detecta entre  $10^3$  y  $10^5$  UFC/ml <sup>25</sup>. Los resultados se muestran en la Tabla VII.



**TABLA VII. RESULTADOS**

PRIMER SEMANA		SEGUNDA SEMANA		TERCER SEMANA	
Identificación de la canal	Resultado	Identificación de la canal	Resultado	Identificación de la canal	Resultado
220	Ausente	249	Ausente	227	Ausente
222	Ausente	243	Ausente	231	Ausente
216	Ausente	244	Ausente	237	Ausente
221	Ausente	248	Ausente	242	Ausente
223	Ausente	251	Ausente	243	Ausente
219	Ausente	242	Ausente	67	Ausente
211	Ausente	246	Ausente	108	Ausente
214	Ausente	238	Ausente	131	Ausente
217	Ausente	240	Ausente	160	Ausente
212	Ausente	245	Ausente	191	Ausente

Sandra García 2012

## DISCUSIÓN

A pesar de que *Listeria monocytogenes* es un patógeno responsable de numerosos brotes y casos infecciosos provocados por la ingesta de carne y productos cárnicos contaminados, en este trabajo no fue posible detectar su presencia mediante el método rápido de ensayo visual inmunoprecipitante, aprobado por la AOAC 997.13.

Con ello se puede afirmar que esta materia prima cumple con lo establecido en el Codex Alimentarius- Directrices sobre la aplicación de principios generales de higiene de los alimentos para el control de *Listeria monocytogenes* en los alimentos CAC/GL 61-2007. No se indica cumplimiento con NOM debido a que no existe alguna que establezca tales estándares.

La estadística de la incidencia de *Listeria monocytogenes* en México es prácticamente nula y la existente no es de fácil acceso; en la actualidad no es una preocupación primordial para ser atendida; es tal vez por este motivo que en nuestro país no haya suficiente información. Sin embargo, por la severidad de la enfermedad debería dársele una mayor importancia e implementar las medidas de prevención y manejo adecuados.

Probablemente la falta de información se deba a que los síntomas de la listeriosis pueden ser confundidos con cualquier enfermedad diarreica aguda, por lo que no se realizan estudios clínicos adecuados para la detección de los patógenos causantes de estos padecimientos; esto probablemente se deba a la falta de interés y al mal manejo de la poca información por parte de las autoridades sanitarias pertinentes, y también a que el manejo de trazabilidad de los productos cuenta con deficiencias.

En México no se tienen antecedentes que coloquen a la Listeriosis como un problema de salud pública, sin embargo, esto no significa que se tenga que esperar a que sea un problema para tomar las medidas necesarias, ya que se tiene el conocimiento de que existe y de como se puede controlar; estas acciones son indispensables para establecer una base científica que permita a las autoridades

sanitarias disponer de medidas eficaces para controlar la enfermedad, cualquiera que sea la forma en la que se presente.

La ausencia de *Listeria monocytogenes* en este estudio podría explicarse por diversas causas, entre las que es posible mencionar lo siguiente:

Una de las primeras razones se puede explicar debido a que en la planta ya existían resultados de estudios previos realizados en marzo del 2007, se procesaron un total de 5 muestras, las cuales fueron negativas a la presencia de *Listeria*, las cuales se tomaron en las superficies de las canales por medio de frotis. Sin embargo esto solo sería un antecedente y un punto de referencia del cual partir sin dejar a un lado las distintas causas que también se deben de tomar en cuenta. No obstante esos resultados concuerdan con lo encontrado en esta segunda oportunidad.

La presencia de microorganismos patógenos en la carne depende de la especie de donde provenga la carne ya sea res, cerdo, ave, etc.; algunos microorganismos de importancia son *E.coli*, *Salmonella*, *L. monocytogenes*, entre otros; su presencia y número en la carne es variable, ya que puede verse afectado por factores como son la alimentación de los animales y las enfermedades propias de las especies mencionadas, entre otras.

En referencia a lo anterior en el 2002 se realizó un estudio en Cuba con animales vivos de las especies bovina, ovina y porcina en el que se evaluó el comportamiento y presentación de la listeriosis durante un periodo de 8 años. Producto de este trabajo se reportaron en 908 bovinos 28 casos positivos a *Listeria* (3.08%); de 3218 ovinos 89 fueron positivos (2.76%) y de 118 porcinos 12 fueron positivos (10.16%); cabe mencionar que en los animales de la especie ovina hubo 11 síntomas en mas del 80% de los casos, relacionados en su mayoría con la afección cerebral mientras que en la especie porcina no se presentó la forma clínica de la enfermedad <sup>26</sup>.

Nelson Izquierdo menciona que la incidencia de *Listeria* puede depender del tipo de alimentación ya que el ensilado del cual se alimenta con frecuencia a los bovinos y ovinos resulta un medio con las condiciones necesarias para el crecimiento de

*Listeria*. Sin embargo en el trabajo que se cita se menciona que los animales no se alimentaban con ensilaje, sino con la “capadura del arroz”, consistente en el residuo de la cosecha de esa gramínea, la cual era consumida de forma seca directamente por los ovinos, no obstante, no menciona con qué eran alimentados los bovinos y los cerdos, solo refiere que la misma capadura puede constituir una fuente secundaria permanente de la infección en el medio <sup>26</sup> ; este hecho no explica por qué los porcinos resultaran ser la especie mas afectada en ese estudio, por lo que cabe la posibilidad de que otros factores estuvieran relacionados

Esto no concuerda con los resultados del presente trabajo en el que la carne estudiada fue de cerdo, sin embargo cabe mencionar que los cerdos objeto de este estudio eran alimentados con granos, lo cual podría explicar la ausencia de *Listeria*.

A partir de cerdos vivos Farzan *et.al* (2009) <sup>27</sup>, realizaron un trabajo donde se buscó la incidencia de *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* O157 y *Listeria monocytogenes* en cerdo; en él se trabajaron 31 granjas de cerdo ubicadas en la región de Waterloo en Ontario, entre marzo del 2005 y noviembre del 2007, el análisis consistió en la toma de muestras de heces provenientes de diferentes granjas, 3 granjas de fin de ciclo y 28 de ciclo completo. En total se analizaron 359 muestras de las cuales 91 fueron del estercolero, 110 provenientes de heces de cerdos de engorda, 78 de heces de cerdas gestantes y 80 de heces del área de destetes.

Para el cultivo de *Listeria monocytogenes* se utilizó el método MFHPB aprobado por la AOAC. *Listeria monocytogenes* fue detectada en 4 (3.3%) de 122 muestras tomadas de 11 granjas; de estos cuatro aislamientos tres fueron de las heces de los destetados y una de las heces de cerdos de engorda.

De la misma manera Esteban *et.al* (2009) <sup>28</sup> reportaron la ausencia de *Listeria monocytogenes* en 17 cerdos, en tanto que 17 ovejas (14.2%) de 120 resultaron positivas, 38 bovinos de engorda (30.6%) de 124 y 38 bovinos lecheros (46.3%) de 82; el estudio se realizó en el norte de España, las muestras se obtuvieron de las heces.



Esteban et.al (2009) <sup>28</sup> mencionan que a pesar de que el número de cerdos fue limitado y la presencia de *Listeria* fue negativa, puede encontrarse con frecuencia en los productos de origen porcino, por lo que lo más factible sería que la contaminación por este agente ocurra sobre todo en mataderos y plantas de proceso.

En relación con estos hechos y considerando que en el presente trabajo se estudiaron canales es posible mencionar que los cerdos vivos pudieran haber sido portadores de *Listeria monocytogenes*, sin embargo para demostrarlo se tendría que realizar otro estudio en animales vivos de la granja de donde provinieron los cerdos de donde se obtuvo la carne objeto de este estudio con resultados negativos para *Listeria* y de esta manera poder descartar la posibilidad de que la fuente de contaminación de *Listeria monocytogenes* hubiera sido la granja.

Como ya se mencionó, la contaminación por *Listeria* se puede dar en los mataderos. Fernando H.(2006) <sup>29</sup> realizó un estudio en E.U. en el cual trabajó con canales de cerdo sin recibir tratamiento con ácidos orgánicos como el láctico o el peracético; la técnica utilizada para la detección de *Listeria* fue el muestreo superficial de las canales por medio de un hisopo, sin especificar el área muestreada. Reportando el 1.5% positivas a *Listeria spp* de un total de 708 canales y el 5% de incidencia de *Listeria monocytogenes* en cortes de carne de las mismas canales, lo cual sería consistente con lo señalado por Esteban (2009).

Por su parte Conter M et.al (2006) <sup>30</sup> hicieron un estudio donde evaluaron las condiciones microbiológicas de las canales de cerdo y el equipo utilizado en el matadero. Se analizaron 70 medias canales inmediatamente después de la evisceración; en cada canal se tomó un corte de carne de aproximadamente 3cm<sup>2</sup> y 5mm de espesor del lomo, hombros, mandíbula y de la parte interna de la pierna. La presencia de *Listeria* se determinó en 6 canales (8.6%) de las 70 analizadas; mientras que en el análisis del equipo e instalaciones, el 50% de las muestras de suelo resultaron positivas así como el 33.3% de las muestras de las mesas de despiece.

Los resultados de estos estudios demuestran que las canales de cerdo pueden tener la presencia de *Listeria* lo cual no coincide con los resultados del presente estudio; sin embargo esto pudiera sugerir que el rastro donde se procesaron estas canales cuenta con buenas condiciones de higiene.

Por otra parte en Hidalgo en el año 2004, se evaluaron las condiciones microbiológicas de un matadero durante el proceso de matanza de porcinos y bovinos; los muestreos se realizaron sin que las canales recibieran tratamiento con ácidos orgánicos. Aunque en las muestras obtenidas de las canales no se buscó *Listeria*, por lo que no se reportan resultados al respecto; cabe destacar que al realizar la evaluación de las condiciones microbiológicas del mismo sólo se reportó la presencia de *E.coli* y *Salmonella* ya que son las que se reportan con mayor frecuencia en canales de cerdo.

Estos resultados pueden afirmar que las condiciones de higiene en un matadero son la clave para que exista *Listeria monocytogenes* ya que al ser una bacteria ubicua y con las condiciones necesarias para su crecimiento, esta prolifera y después es difícil su eliminación; esto coincide con la ausencia de *Listeria* en el presente estudio ya que nos indica que el matadero donde se procesaron las canales cumple con los estándares de higiene establecidos <sup>31</sup>.

Otra de las variables que se pueden mencionar en relación al no haber detectado *listeria* en este trabajo es el método microbiológico utilizado, ya que a pesar de estar aprobado por las autoridades competentes y de contar con los certificados de calidad, esto no lo excluye de tener variaciones en sus resultados.

Cabe mencionar que los métodos microbiológicos deben ser fiables y esto se logra por la precisión de los mismos la cual consiste en la sensibilidad, o la capacidad del test para detectar números bajos del microorganismo diana y la especificidad que consiste en la capacidad de diferenciar el microorganismo de interés de otros.

Con respecto a lo anterior, en un estudio realizado en E.U. durante el año 2005 se compararon tres métodos de detección de listeria; estos fueron, el método tradicional de cultivo en agar, el método rápido de la marca Tecra VIA®, y el método rápido de Bio Control VIP®. Se analizaron 120 muestras de carne y productos cárnicos, de las cuales 79 muestras fueron positivas a listeria. El método rápido VIA® comparado con el método tradicional tiene un rango de confianza del 87%, mientras que en el método rápido VIP® es de 84% <sup>32</sup>.

Teniendo en cuenta estos resultados, sería posible mencionar que a pesar de tener un rango de confianza del 84% cabe la posibilidad que dentro del 16% restante existan variaciones en los resultados obtenidos, sin embargo se tendría que realizar un análisis estadístico para saber con precisión cuantas muestras pudieran entrar en ese porcentaje.

Por último y sin menos importancia se debe mencionar que el error humano es una de las variables que se tienen en cualquier proceso, ya que un dato obtenido por un humano puede contener falsedades o alteraciones que afecten los resultados, debido a la atención que se ponga, a una falla en el uso de los aparatos de medición, o bien a un error de apreciación <sup>33</sup>.

Las variables antes mencionadas pueden ser controlables, sin embargo, deben de tenerse en consideración la gran capacidad de combinaciones existentes entre cada una de estas causas, las interacciones entre ellas, la posible o necesaria ausencia de las mismas, las ventajas y desventajas de tenerlas presentes o no.

## CONCLUSIÓN

La ausencia de *Listeria monocytogenes* en el presente estudio es favorable, y con ello cumple con la hipótesis del trabajo la cual menciona que si se muestrea carne de cerdo proveniente de un rastro TIF, obtenida, conservada y manejada de acuerdo a la normativa aplicable, no se podrá detectar *Listeria spp* mediante pruebas rápidas; esto nos demuestra que el rastro del que proviene estas canales cumple con lo establecido en las NOM-008-ZOO-1994, NOM-009-ZOO-1994, NOM-033-ZOO-1995 y NOM-120-SSA-1994, por lo que la carne puede utilizarse sin ningún inconveniente en la empacadora; con su posterior procesamiento y manejo adecuado de higiene, BPM, etc.; y así obtener productos cárnicos inocuos.

Así mismo cabe mencionar que también se cumplió con el objetivo el cual era detectar la presencia de *Listeria* en carne de cerdo; el detectar no significa que nuestro objetivo era encontrar *Listeria* sino descubrir su ausencia o presencia en la carne, es por eso que se cumplió con ello.

Sin embargo, se tiene que tomar en cuenta que no se puede descartar la presencia de *Listeria monocytogenes* en la carne ya que como se mencionó en la discusión, pueden existir diversos factores de contaminación, y por lo tanto se tendría que descartar que en la granja de donde provienen los cerdos este libre y con esto poder confirmar su ausencia.

## RECOMENDACIONES

- Tener un programa de detección oportuna de *Listeria monocytogenes* en rastros, plantas procesadoras de carne y leche, mediante control de procesos, para poder tomar las medidas necesarias y evitar su proliferación.
- Contar con programas de capacitación al personal, para mantenerlos informados sobre los riesgos que puede tener el no cumplir con lo establecido en las normas.
- Tomar medidas de prevención como la desinfección de canales para con ello evitar la proliferación de agentes patógenos si así fuera el caso.
- Tener programas de detección de microorganismos patógenos en la carne, tanto en recepción, procesos y en producto final para con ello garantizar que la carne durante la cadena de producción esté libre de ellos.
- Las Buenas Prácticas de Manufactura e Higiene son la base para obtener alimentos inocuos, es por ello que se debe tener un programa de elaboración e implementación así como también la supervisión constante de las mismas.
- Implementar un sistema HACCP (Análisis de Control de Puntos críticos) en rastros y plantas procesadoras de carne.

## REFERENCIAS

1. Flores Luna José Luis, Vélez Méndez Amanda; Comunicación y participación La experiencia en México; 2002 enero; pág. 2; Marrakech, Marruecos; FAO OMS.
2. Caballero Torres Ángel; Temas de Higiene de los Alimentos; Editorial Ciencias Médicas; Cuba; 2008.
3. Moraes S, Bejarano N, Cuellar J; Buenas prácticas de manufactura (GMP) y Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), Editorial INPPAZ/OPS/OMS, Argentina; 2001.
4. Empleo del Ácido Láctico en productos cárnicos, *Mundo Lácteo y Cárnico*, marzo/abril; 2005, pág. 28 [12 de enero de 2011, 3:05 pm. [www.mundolacteoycarnico.com](http://www.mundolacteoycarnico.com)].
5. Moreno García Benito; Higiene e Inspección de carnes Volumen I; Editorial Díaz de Santos; segunda edición; España; 2006.
6. Milena Vázquez Sandra, Suarez Héctor M, Zapata B. Sandra; Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne, *Mundo Lácteo y Cárnico*, mayo/junio, 2010, pág. 8, [10 de febrero de 2011, 12:13pm, [www.mundolacteoycarnico.com](http://www.mundolacteoycarnico.com)]
7. Rojas Herrera Rafael, González Flores Tania; Detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa, *Medigraphic Artemisa en línea*, abril-junio 2006, volumen 31, No. 2, [13 junio de 2011 2:30pm]
8. Buncic Sava; Seguridad alimentaria integrada y salud pública veterinaria; Editorial Acribia; España; 2009
9. Stanchi Nestor Oscar; Microbiología veterinaria; Editorial Intermédica; Argentina; 2007.
10. Bell Chris; Listeria una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos; Editorial Acribia; España; 2000.
11. T. Ryser Elliot, H. Marth Elmer; Listeria, listeriosis and food safety, Editorial Marcel Dekker; segunda edición; Estados Unidos, 1999.

12. Domínguez Carmona; Listeriosis. Una zoonosis emergente de transmisión alimentaria; Catedrático Emérito de la Universidad de San Pablo; Brasil.
13. J. Montville Thomas, R. Matthews Karl; Microbiología de los alimentos; Editorial Acribia; España; 2010.
14. www.ocetif.com [22 de septiembre de 2011, 9:32pm]
15. López Pérez Jorge, Mora Medina Patricia, Pantoja Carrillo Dora Luz, et al. Manual teórico de la asignatura: Inspección de productos de origen animal segunda parte, UNAM Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán; México; 2006.
16. Manual de Inspección en establecimientos TIF; SENASICA; 2008.
17. Norma Oficial Mexicana NOM-051-ZOO-1995. Trato humanitario en la movilización de animales. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 31 de Octubre de 1996.
18. Norma Oficial Mexicana, NOM 009-ZOO-1994. Proceso sanitario de la carne. México: SAGARPA, 1994. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 16 de Noviembre de 1994, modificación publicada en el Diario Oficial de la Federación el 31 de Julio de 2007.
19. Norma Oficial Mexicana NOM-008-ZOO-1994, Especificaciones zoosanitarias para la construcción y equipamiento de establecimientos para el sacrificio de animales y los dedicados a la industrialización de productos cárnicos, en aquellos puntos que resultaron procedentes. México: SAGARPA, 1994. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 16 de Noviembre de 1994, modificación publicada en el Diario Oficial de la Federación el 10 de Febrero de 1999.
20. International Commission on Microbiological Specifications for Foods (I.C.M.S.F.) 1988, Ecología microbiana de los alimentos, productos alimenticios Volumen II, Editorial Acribia, España; 1985.
21. Martínez Valdez Wendy; Primer diplomado en procesamiento de porcinos en establecimientos TIF; 2010; mayo – julio; instalaciones del auditorio de sanidad vegetal de la DGIAAP, ubicado en Av. Guillermo Pérez Valenzuela No. 127, Col. del Carmen, Coyoacan México D.F.; OCETIF A.C.

22. Warris P.D., Ciencia de la carne, Editorial Acribia; España; 2003.
23. Ojeda J. Cynthia; Aplicación de ácidos orgánicos en la reducción de microorganismos aerobios mesófilos y coliformes totales y fecales en canales de bovinos (Tesis de Licenciatura); Guayaquil (Ecuador); Escuela Superior Politecnica del Litoral; 2009)
24. García Garibay Mariano, Quintero Ramírez Rodolfo, Biotecnología alimentaria, Editorial Limusa, México, 2002.
25. www.serco.com.mx [14 de julio de 2011, 1:25 pm]
26. Izquierdo Pérez Nelson, García Sorrondegui Marli; Listeriosis en las especies bovina, ovina y porcina en un municipio de la República de Cuba; *Revista Producción animal*; Vol. 14, Núm. 2; pág. 61, 2002.
27. Farzan A., M. Friendship, Cook A.; Occurrence of *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* O157, and *Listeria monocytogenes* in swine; Ontario, Canada; *Zoonoses Public Health*; pag. 388; Octubre, 2009.
28. Esteban Jon, Oporto Beatriz, Aduriz Gorka; Faecal shedding and strain diversity of *Listeria monocytogenes* in healthy ruminants and swine in Northern Spain, *Bio Med Central*; España; Enero 2009.
29. H. Fernando, Rivera P., Wesley Irene; Determinación microbiológica y molecular de *Listeria spp.* y *Listeria monocytogenes* en cerdas a nivel de una planta beneficiadora en E.U.; *Revista Científica*; Maracaibo, Venezuela; Vol. 16, Num. 3; Mayo, 2006.
30. Conter M., Zanardi E., Ghidini S.; Microbiological condition of carcasses and equipment in a pigslaughterhouse and evaluation of a steam decontamination system; *Jornual Food Science*; Italia; Vol. 18, Num. 4; 2006.
31. Hernández San Juan Sagrario, Zuñiga Estrada Arminda, Sanchez Ortega Irais; Condiciones microbiológicas en el proceso de sacrificio en un rastro municipal del estado de Hidalgo, México; *Revista Veterinaria México*; México; Vol. 38, Num. 2; 2007.
32. Casale Aragon Lina, Wittman Roberta, Padovani Carlos; Detection of *Listeria sp.* in meat and meat products using teca *Listeria* visual immunoassay and biocontrol visual immunoprecipitate assay for *Listeria* immunoassays and a



cultural procedure; *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*; E.U; Vol. 13; Pag. 204-212; Septiembre, 2005.

33. López Pérez Jorge, Munguia Villavicencio Patxi; Manual de Taller de Control de Calidad de Alimentos de Origen Pecuario primera parte; Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán; Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.