



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**EVALUACIÓN DE LA ETAPA DE TERMOENCOGIDO COMO
INTERVENCIÓN PARA EL CONTROL DE *Listeria monocytogenes* EN EL
PROCESO DE ELABORACIÓN DE JAMÓN COCIDO**

TESIS

QUE PARA LA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A

ALDEBARAN CHAIREZ ESPINOSA

ASESORES: M.C. ENRIQUE J. DELGADO SUÁREZ

Q.A. LUZ DEL CARMEN SIERRA GOMEZ P.

MÉXICO D.F.

2013





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIA

A mis padres

Mis padres que siempre han estado conmigo apoyándome en cada momento de mi vida y que me permitieron escoger mi propio camino. Muchas gracias

Mamá gracias por la paciencia y todas las horas de apoyo, esfuerzo y angustia gracias por mostrarme tu fuerza e impulsarme a seguir adelante.

Papá gracias porque a pesar de que las circunstancias no han sido las favorables para ti tu nunca me has dejado de apoyar.

A mi hermano Ramse tu siempre has sido mi ejemplo, muchas gracias por mostrarme un camino, gracias por enseñarme a no conformarme con lo que veo y dejarme la espina de que siempre hay algo más que uno puede encontrar.

A mi hermana Shakty. Muchas gracias hermanita por todo tu apoyo y ayudarme en los momentos difíciles.

A mis primos: Bere, cristian, Yaburi, Ezra, Azdiwual y Sol por toda la alegría que me brinda su presencia, saben que los quiero como hermanos y que siempre están presentes en todos mis logros.

A mis abuelos: Que se nos han adelantado, peor que siempre tengo presente en pensamiento. Los extraño

A mis amigos: Víctor, Israel, Omar, Héctor y Carlos, gracias por enseñarme una buena amistad y compartir momentos de alegría.

A mis asesores: Luz y el doctor Enrique , gracias por invitarme al proyecto y brindarme todo su apoyo, por los jalones de orejas, por su preocupación, por estar al pendiente y apoyarme en un momento tan difícil en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores por brindarme la oportunidad de realizar este trabajo de investigación y por todo su apoyo y asesoría

Al Departamento de Medicina preventiva y salud pública por permitirme la realización del trabajo dentro de sus instalaciones.

A mis sinodales por las sugerencias y correcciones para la realización de este trabajo.

CONTENIDO

	Página
Resumen.....	1
Introducción.....	2
Material y métodos.....	14
Resultados	20
Discusión.....	22
Conclusiones.....	26
Referencias.....	27
Cuadros.....	29
Figuras.....	34

Cuadros

Cuadro 1 Número de casos de listeriosis asociados con diferentes alimentos a escala mundial (período 1990 – 2009)	31
Cuadro 2. Efecto de la inmersión en agua caliente sobre la concentración de <i>Listeria monocytogenes</i> en diferentes productos inoculados con el patógeno	32
Cuadro 3. Efecto del tiempo de retención en agua caliente en la temperatura superficial del jamón.....	33
Cuadro 4. Efecto del tiempo de retención en agua caliente a diferentes temperaturas sobre la concentración de <i>Listeria monocytogenes</i> (log UFC/cm ²) en el jamón.....	34
Cuadro 5. Reducciones (log UFC) en la concentración de <i>L. monocytogenes</i> alcanzadas a las diferentes temperaturas y tiempos de retención del jamón en agua caliente	35

Figuras

Figura 1. Frecuencia de retiros de mercado asociados con la presencia de <i>L. monocytogenes</i> en diferentes alimentos, EEUU (2008- 2011).....	36
Figura 2. Diagrama de flujo de producción de jamón cocido.....	37

Figura 3. Patogenia de *Listeria monocytogenes*.....38

RESUMEN

Chairez Espinosa Aldebaran. Evaluación de la etapa de termoencogido como intervención para el control de *Listeria monocytogenes* en el proceso de elaboración de jamón cocido (bajo la dirección de: MC Enrique J. Delgado Suárez y Q.A. Luz del Carmen Sierra Gómez Pedroso).

La *Listeria monocytogenes* es un patógeno de importancia en salud pública, el cual se asocia con alimentos listos para el consumo que se exponen a contaminación post-letal, como en el caso de algunos embutidos. De ahí la importancia de controlar este patógeno desde la industria. El objetivo del trabajo fue evaluar la etapa de termoencogido como intervención para el control de *L. monocytogenes* en el proceso de elaboración de jamón cocido. Se inocularon piezas de jamón de pavo de 10 cm² con 10⁵ UFC/cm² del patógeno y se sumergieron en agua a 75, 80, 85 y 90°C por 0 (control), 20, 25 y 30 s. Los tratamientos a 75 y 80°C produjeron reducciones logarítmicas despreciables, entre 0.18 y 0.37, en la concentración del patógeno. A 85°C se alcanzó una reducción máxima de 1 log a los 30 s de retención; mientras que a 90°C se obtuvieron reducciones de 1.82, 2.67 y 3.91 log, a los 20 25 y 30 s de retención, respectivamente. Los resultados sugieren que la etapa de termoencogido podría permitir el control de *L. monocytogenes* en el ambiente post-letal de proceso de elaboración de jamón cocido. En este sentido, el tratamiento más efectivo de los estudiados fue la inmersión en agua a 90°C por 30 s.

INTRODUCCION

La *Listeria monocytogenes* es un patógeno de importancia en salud pública, pues provoca una infección con alta tasa de mortalidad¹. Esta bacteria se asocia principalmente con alimentos listos para el consumo (LPC) que están expuestos a recontaminación después del proceso letal, tales como el jamón cocido^{1,2}. Se han realizado numerosas investigaciones con el objetivo de identificar medidas para el control de *Listeria monocytogenes* en el ambiente post-letal del proceso de elaboración de alimentos LPC. El tratamiento térmico ha sido uno de los más estudiados. Algunos establecimientos han implementado procesos de post pasteurización, lo cual además de costoso, repercute negativamente en la productividad, debido al tiempo requerido para aplicar un segundo tratamiento térmico. Otra etapa en la que se emplea calor en el ambiente post-letal de embutidos como el jamón es la conocida como termoencogido. En ésta, el jamón se sumerge en agua entre 60 y 90 °C durante algunos segundos, con el fin de reforzar el vacío. Dado que la contaminación del jamón ocurre a nivel superficial, las temperaturas que se alcanzan en el termoencogido podrían tener efectos letales sobre *L. monocytogenes*. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la etapa de termoencogido como posible intervención para el control de *L. monocytogenes* en el ambiente post-letal del proceso de elaboración de jamón cocido a granel.

ANTECEDENTES

Listeriosis transmitida por alimentos

Listeria monocytogenes es de gran importancia por su capacidad para producir listeriosis. La enfermedad ha sido reportada, en aves, cerdos, rumiantes y en el ser humano^{1, 3-5}. Es reportada con morbilidad baja pero con un alto porcentaje de letalidad, que en algunos brotes ha sobrepasado el 35 %⁴. La población susceptible son mujeres gestantes, ancianos, neonatos, y personas inmunodeprimidas.

Esta bacteria se identifica como un bacilo Gram positivo, aerobio o anaerobio facultativo, catalasa positivo, hidroliza la esculina y es móvil a temperaturas de 10-25°C. Su temperatura óptima de crecimiento se da entre los 30-37°C, sobrevive en intervalos de pH entre 4.7 y 9.2 y crece a temperaturas de refrigeración (4°C), aunque experimentalmente se ha reportado crecimiento por debajo de 0°C. Estas características le permiten sobrevivir en condiciones adversas, motivo por el cual se ha aislado de suelo, agua, vegetales, animales, alimentos y de personas aparentemente sanas¹.

Los casos de listeriosis transmitida por alimentos principalmente se dan en individuos con problemas de inmunodeficiencia, pero también se han presentado en personas sanas. El tipo de cepa y la dosis ingerida son factores determinantes

en este sentido. La bacteria se desarrolla intracelularmente (macrófagos fibroblastos, células epiteliales). En su cuadro más conocido se asocia con meningitis, meningoencefalitis, abortos y muerte, tanto en adultos como en neonatos. Sin embargo, también se puede asociar a otras signologías y complicaciones, que van desde problemas gastrointestinales ligeros, fiebre, hasta colitis ulcerativa y complicaciones en patologías renales y cardíacas³.

La Organización mundial de la Salud (OMS) estima que en personas sanas es necesario ingerir una dosis de por lo menos 10^6 - 10^{14} UFC para que se presente la enfermedad⁶. El periodo de incubación es también variable, desde unos días hasta varios meses (1-90 días)^{1, 7} característica que representa uno de los mayores retos epidemiológicos, ya que complica la asociación de la ingesta del alimento contaminado con el cuadro de la enfermedad. Los individuos inmunocomprometidos son más susceptibles tanto a padecer la enfermedad como a morir por esta causa⁶. Para estos grupos se recomiendan mayores medidas de higiene y cuidados al manipular, almacenar y consumir los alimentos^{6,8}, especialmente en aquellos que están más asociados con el patógeno.

Principales alimentos asociados con *Listeria monocytogenes*

L. monocytogenes es un agente infeccioso ubicuo en la naturaleza y muy difícil de eliminar del medio ambiente¹. Por ello, su presencia en las plantas

procesadoras de alimentos, con abundancia de ambientes húmedos y fríos, es prácticamente inevitable. Por fortuna, no todos los alimentos favorecen el crecimiento de *L. monocytogenes*. Por ejemplo, este patógeno no es capaz de multiplicarse en alimentos deshidratados o ácidos, tales como las papas fritas, el yogurt y la leche condensada azucarada². En general, los productos que reciben tratamiento térmico en los hogares, antes de ser ingeridos, son menos riesgosos que los alimentos LPC que se procesan en la industria, especialmente aquellos que son manipulados directamente y se exponen al ambiente, después de la etapa letal, en las plantas procesadoras. Lo anterior supone un riesgo inaceptable para la salud pública⁹. Esto es porque muchos alimentos LPC se almacenan en refrigeración y tienen una vida de anaquel relativamente larga. Aunque la bacteria no es buena compitiendo con la flora saprófita o alteradora, se ve favorecida durante el almacenamiento en refrigeración de los alimentos, por su habilidad para crecer a estas temperaturas. En productos como el jamón, que pueden durar varias semanas en el refrigerador, se ha demostrado que el patógeno puede llegar a alcanzar e incluso superar la dosis infectante estimada referida anteriormente (10^6 - 10^{14} UFC)⁶. La persistente detección de *Listeria* en muestras de jamón en puntos de venta de Estados Unidos y Canadá confirma el análisis anterior con respecto al riesgo asociado con este patógeno en esta clase de productos^{7, 8, 10}. En el cuadro 1 se muestran datos sobre brotes y casos de listeriosis asociados con distintos tipos de alimentos en diferentes partes del mundo (CUADRO 1).

Los embutidos están dentro de los principales grupos de alimentos asociados con *L. monocytogenes*^{8, 11} (Figura 2). La bacteria se ha aislado a partir de muestras en empaques cerrados de jamón cocido^{11, 7} e incluso en muestras de alimento listos para servir en hospitales. *L. monocytogenes* en jamón podría representar un riesgo latente, por ser un producto que puede favorecer su crecimiento, bajo determinadas condiciones. Si bien su multiplicación es lenta en los primeros días de la vida útil del producto, ello debido a la presencia de conservadores (como los nitritos); la vida de anaquel relativamente larga del jamón, unido a la manipulación inapropiada que usualmente hacen los consumidores al almacenar el producto a temperaturas superiores a los 4°C², genera condiciones favorables para la proliferación del patógeno en grandes números. Al presente se ha detectado *L. monocytogenes* tanto en productos empacados al vacío como en diferentes superficies de las plantas de producción (ej. utensilios, paredes, coladeras, etc.).^{12, 13}

En contraste con naciones desarrolladas, donde la presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos LPC expuestos a contaminación letal está regulada⁹,

¹⁴; en México, la Norma Oficial Mexicana NOM-158-SCFI-2003¹⁵, que establece las reglas de identidad y las especificaciones microbiológicas para los diferentes tipos de jamón, no toma en cuenta la *L. monocytogenes*. Sucede lo mismo con la norma aplicable a productos cárnicos procesados (NOM-213-SSA1-2002)¹⁶ en la que tampoco se establecen requisitos con respecto a Listeria. Solamente la norma relativa a leche y productos lácteos¹⁷ establece un criterio de cero tolerancia para este patógeno.

Es probable que lo anterior se deba a que se ha sugerido que la listeriosis es un problema de salud pública sólo en países desarrollados⁵. No obstante, el hecho de que sólo se reporten casos en países industrializados podría deberse más a que éstos disponen de sistemas de vigilancia epidemiológica más eficientes en relación con los países en desarrollo. Por ejemplo, en México la vigilancia epidemiológica es pasiva y el monitoreo microbiológico de los alimentos es muy limitado. Por lo tanto, en realidad no se dispone de los elementos suficientes para dimensionar la prevalencia y concentración de este patógeno en los alimentos y, por ende, su posible impacto en la salud pública. Ante la ausencia de vigilancia epidemiológica activa, no es riguroso descartar que cierto número de brotes y/o casos provocados por *L. monocytogenes* pasen desapercibidos, ya que los síntomas podrían confundirse con los de otras infecciones. Por lo tanto, resulta evidente la importancia de que se investiguen y se desarrollen estrategias e

intervenciones para el control de *L. monocytogenes* en los LPC en general, así como en los embutidos y en los jamones en lo particular.

Son escasos los estudios que consideran la determinación cuantitativa de *Listeria*. Debido a la cero tolerancia establecida para el patógeno en casi todos los países que regulan esta bacteria en alimentos, la mayoría de las investigaciones utilizan técnicas de detección. En una investigación con embutidos y carnes frías en Grecia, se reportó una concentración de *L. monocytogenes* de 10 UFC/cm² en el punto de venta.¹⁸ Aparentemente, esta concentración es baja si se toman en cuenta las altas dosis infectantes reportadas para este patógeno⁶. En la práctica, como se analizó anteriormente, una contaminación mínima en la superficie podría derivar en un riesgo significativo para la salud de los consumidores. De ahí la importancia de controlar *Listeria* antes de que el producto salga al comercio. De lo contrario, la combinación de factores post proceso podría favorecer la ocurrencia de enfermedades causadas por este organismo. Si se toma en cuenta la concentración superficial de 10 UFC/cm² como el peor escenario de contaminación con *Listeria* en jamones empacados, cualquier intervención post-letal debería garantizar cuando menos 3 reducciones logarítmicas de la bacteria, para que quede en niveles no detectables en el producto.

Intervenciones para el control de *L. monocytogenes* en la industria de embutidos

En este ámbito, la mayoría de las investigaciones se han enfocado en los tratamientos que se pueden aplicar después de la etapa letal (cocción, pasteurización etc.). Como se mencionó anteriormente, el riesgo de enfermedad es mayor en alimentos expuestos a recontaminación con *Listeria* en el ambiente post-letal².

Entre las intervenciones más estudiadas se encuentran las radiaciones ionizantes, que han mostrado resultados satisfactorios para el control de *Listeria* en diferentes productos a dosis relativamente bajas. Por ejemplo, se han empleado en tomates, en donde se han reportado reducciones de *Listeria* de hasta 3.6 log con diferentes dosis de rayos X y con radiaciones ionizantes de 1.5 kGy¹⁹. También se han irradiado con éxito carne de res y de pollo, pues los productos se han mantenido libres del patógeno hasta por 7 días cuando se aplican dosis de 2.5 kGy antes de la refrigeración.²⁰ En jamones se reportó una reducción del 90% de *Listeria* y de la flora saprófita con dosis entre 1 y 2.5 kGy²¹. En otro experimento con jamones se logró suprimir el crecimiento de *Listeria* por cerca de 6 semanas a 4 °C, mediante la aplicación combinada de radiaciones (1.0 kGy) y aditivos bacteriostáticos (diacetato y benzoato de sodio al 0.1%). Sin embargo, este método de tratamiento no es de aplicación generalizada a escala industrial, debido a su elevado costo, entre otros factores.

El empleo de agentes bacteriostáticos en productos formulados se ha convertido en una práctica generalizada en la industria de embutidos. Estos agentes se utilizan en bajas concentraciones, por lo que no impactan significativamente el costo de producción. Por ejemplo, la adición de nisina entre 0.2 y 0.5% en jamón de pavo inhibió el crecimiento hasta en 4 log a los 63 días de almacenamiento refrigerado (4 °C).²² Gary et al. reportaron inhibición de *Listeria* hasta por 30 días en salchichas y mortadelas tratadas con ácido láctico. Por su parte, Martin et al.²³ observaron una reducción superior a 1 log de *Listeria* en la superficie de salchichas inoculadas con el patógeno y tratadas con arginato láurico a 22 ppm.

Si bien el uso de aditivos listericidas ha demostrado cierta efectividad para el control del patógeno en los productos terminados, muchos otros estudios se enfocan en el tratamiento térmico post-letal. Lo anterior debido a la cero tolerancia para la presencia de *Listeria* en los alimentos LPC.

El tratamiento térmico por inmersión en agua caliente ha sido propuesto por algunos autores como una alternativa para el control de *Listeria* en alimentos “delicatessen”. Los resultados observados son muy variables, lo cual no es sorprendente si se toma en cuenta la gran variedad de productos embutidos y carnes frías, con características diversas en materia de formulación, composición química, tipo de empaque, textura, entre otros factores. El cuadro 2 resume los resultados de algunos trabajos en los que se ha evaluado este método de control.

Como se puede observar, estos procedimientos ofrecen buenos resultados para el control de *L. monocytogenes*. Su aplicación en el ambiente post-letal, una vez que el jamón ha sido empacado, podría asegurar la eliminación total del patógeno. No es casual que la post pasteurización se haya convertido en una medida que con frecuencia aplican las plantas procesadoras con el fin de asegurar la eliminación total de *Listeria* desde la industria. Lo anterior no es sorprendente si se tiene en cuenta que la contaminación post-letal es eminentemente superficial, pues los procesos de cocción y/o pasteurización se encargaron de eliminar la bacteria en toda la masa del producto con anterioridad. En este sentido, la etapa de termoencogido, comúnmente usada en las plantas procesadoras para reforzar el vacío, ofrece una alternativa más económica que la post pasteurización. El empleo de una etapa rápida como el termoencogido podría resultar muy ventajosa desde el punto de vista económico, si es que se demuestra que la utilización de especificaciones de proceso parecidas a las utilizadas en la práctica diaria resulta efectiva para el control de *Listeria*.

JUSTIFICACIÓN

Listeria monocytogenes es un microorganismo de relevancia por su impacto negativo en la salud pública. La persistente detección de este patógeno en jamón cocido y en otros embutidos y, el consecuente retiro de mercado de los mismos, evidencia la necesidad de desarrollar estrategias para su control riguroso a escala industrial. La validación de la etapa de termoencogido, como intervención para el control de *L. monocytogenes* en el ambiente post-letal del proceso de elaboración de jamón cocido, puede representar una alternativa técnica y económicamente viable para la industria cárnica mexicana e internacional.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar la etapa de termoencogido como posible intervención para el control de *Listeria monocytogenes* en el ambiente post-letal del proceso de elaboración de jamón cocido.

Objetivos específicos

- Estimar si el tiempo de retención del jamón en agua caliente a 75, 80, 85 y 90°C permite alcanzar temperaturas letales en la superficie del producto.
- Evaluar el efecto del tiempo de retención en agua caliente a 75, 80, 85 y 90°C sobre la concentración y supervivencia de *L. monocytogenes* en piezas de jamón inoculadas con este organismo.

MATERIAL Y METODOS

Jamón

Se adquirieron piezas de jamón de pavo tipo Virginia de una sola marca comercial en una misma tienda de autoservicio. El producto se cortó en piezas de 10 cm² y 3 cm de grosor con cuchillo estéril dentro de la campana de flujo laminar.

Microorganismo

Se trabajó con una cepa de referencia de *L. monocytogenes*, proporcionada por la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional. Se realizó su confirmación a través de tinción de Gram (+) y de las pruebas bioquímicas con los resultados característicos del patógeno²⁴ (Xilosa+, Ramnosa+, motilidad a 25°C +, Maltosa+ y Manitol-). La cepa fue conservada en aceite mineral por triplicado y se almacenó en refrigeración hasta su empleo. Para utilizar la cepa se sembró en agar Oxford con suplemento selectivo. Se prepararon siete diluciones décuples seriadas y se realizaron siembras en

placa, con el fin de estimar el volumen requerido para garantizar una concentración final de la bacteria en la superficie del jamón de aproximadamente 10^5 UFC/cm². Mediante este procedimiento, se identificó que era necesario inocular 200 µL de la dilución 10^{-2} en cada pieza, para garantizar la concentración objetivo. Previo a la inoculación del jamón, se realizaron siembras en placa de la dilución elegida, para corroborar que la concentración bacteriana fuera la correcta.

Preparación de las muestras previo al tratamiento térmico

Dentro de la campana de flujo laminar se inocularon las piezas con aproximadamente 10^5 UFC /cm² de *L. monocytogenes* y se distribuyó el inóculo con una varilla acodada. La pieza fue sellada, empacada al vacío y se colocó en refrigeración por 30 min para estabilizar el inóculo en la pieza de jamón, previo al tratamiento térmico.

Termoencogido

Para simular el proceso de termoencogido se utilizó un baño maría, que alcanza temperaturas máximas de 100°C. Se utilizó un termómetro de mínimas y máximas temperaturas con el fin de calibrar el baño maría, y se sumergieron las piezas a la misma profundidad en todas las repeticiones. Con el fin de simular las condiciones

industriales, se hicieron pruebas preliminares en las que se comprobó que la temperatura del agua permanecía constante durante el tiempo en que el jamón se mantenía sumergido en el baño. En estas pruebas preliminares, se probaron varias temperaturas y tiempos de retención del jamón, descartando las combinaciones que no permitieron alcanzar temperaturas letales en la superficie del producto.

Experimento

Se evaluaron varios regímenes de tratamiento térmico, considerando cuatro temperaturas del agua de termoencogido (75, 80, 85 y 90°C) y tres tiempos de retención dentro de cada temperatura (20, 25 y 30 s). Lo anterior se decidió tomando en cuenta los resultados de las pruebas preliminares, así como el empleo de regímenes de tratamiento térmico que fueran viables en la práctica industrial. Se trabajaron tres réplicas por tiempo de retención dentro de cada temperatura.

Adicionalmente, se consideró un control positivo, el cual consistió en piezas de jamón inoculadas con el patógeno (3 réplicas), del mismo tamaño y preparadas bajo las mismas condiciones en que se trabajaron las piezas sometidas a tratamiento térmico, pero sin ser sumergidas en el agua caliente. Se corrió un control positivo por cada una de las corridas experimentales. El resultado promedio de la cuenta de los controles positivos permitió determinar la

concentración real del patógeno en la superficie del jamón, así como calcular el número de reducciones logarítmicas que se alcanzaron en las diferentes combinaciones de temperatura y tiempo estudiadas.

Por otra parte, también se consideró un control negativo, el cual consistió en piezas de jamón sin inocular, con el objetivo de considerar en los cálculos la posible contaminación de origen que pudiera tener el jamón, de tal manera que se obtuviera la reducción logarítmica efectivamente causada por los tratamientos.

Cálculo de temperatura superficial de las piezas de jamón

Se utilizó un sistema termopar con el fin de medir la temperatura superficial de la pieza de jamón. El termopar fue colocado en la parte central superficial de cada pieza. Con esto se pudo observar la diferencia entre la temperatura del agua y la temperatura de superficie del jamón. Por razones de bioseguridad, la medición de temperaturas se realizó en piezas no inoculadas con *L. monocytogenes*. Con el apoyo de un cronómetro se observaron los tiempos de retención y se tomó lectura en cada uno de los tiempos experimentales (20, 25 y 30 s). Este procedimiento se realizó por triplicado en cada una de las temperaturas experimentales (75, 80, 85 y 90°C).

Análisis microbiológico

El análisis de cada pieza de jamón se realizó mediante muestreo por agitación o enjuague de superficie de la pieza (muestreo de superficies vivas) en virtud de obtener una mejor recuperación de colonias en comparación con el método de hisopaje²⁵. Todo el material utilizado fue esterilizado previamente. Después de los tratamientos realizados, la pieza fue transportada a la campana de flujo laminar, se abrió el empaque y se agregaron 100 ml de caldo Listeria estéril dentro del empaque con la pieza de jamón. Posteriormente, se agitó vigorosamente la bolsa por un minuto²⁵ y se realizaron diluciones décuples seriadas hasta la dilución 10^{-5} en tubos de ensayo con caldo listeria. De la bolsa y de cada tubo se tomó 1 ml, que fue sembrado por duplicado en cajas petri con agar Oxford y suplemento selectivo. Las cajas petri así sembradas se mantuvieron en incubación a 30°C por 48 hrs antes de realizar las lecturas, según metodología de la FDA (BAM²⁴) para la recuperación de colonias, incubación y lectura. Esta última fue realizada tomando en consideración la morfología típica de las colonias de *L. monocytogenes*, que son redondeadas, brillantes y de color negro, debido a la reacción provocada por la hidrólisis de la esculina. En ninguna de las cajas de petri se observaron colonias con características morfológicas diferentes a las recién descritas.

Análisis estadístico de resultados

Se realizó la transformación de la concentración en escala logarítmica, con el fin de contar con una variable continua y poder emplear el análisis inferencial. De esta forma, se realizó un ANOVA para evaluar el efecto del tiempo de retención a diferentes temperaturas en la temperatura superficial del jamón, en la concentración del patógeno y en el número de reducciones logarítmicas que produjo cada tratamiento en la concentración de *Listeria*. Cuando se encontraron diferencias significativas dentro de cada temperatura, las medias se discriminaron mediante la prueba de rangos múltiples de Tukey.

RESULTADOS

Efecto del tratamiento en la temperatura superficial del jamón

En el cuadro 3 se presentan las temperaturas máximas alcanzadas en la superficie del jamón para cada uno de los tratamientos estudiados. Como se esperaba, la temperatura superficial del producto aumentó significativamente a medida que el tiempo de retención en el agua caliente se incrementó ($P < 0.05$). No obstante, las temperaturas máximas alcanzadas en los tratamientos a 75 y 80 °C son relativamente bajas, pues se encuentran en un intervalo para el que se han reportado tiempos de reducción decimal de *L. monocytogenes* de varios minutos²⁶.

Efecto del tratamiento en la concentración de *L. monocytogenes*

Como se puede observar en el cuadro 4, los tratamientos a 75 y 80 °C tuvieron un efecto despreciable en la concentración del patógeno. Si bien la cuenta bacteriana bajó significativamente con respecto al grupo control ($P < 0.05$), permaneció inalterable desde los 20 y hasta los 30 s de retención a estas temperaturas. Los tratamientos a 85 y 90 °C produjeron una reducción sostenida ($P < 0.05$) en la concentración de *L. monocytogenes* a medida que aumentó el tiempo de retención en el agua caliente. Cabe destacar que en el tratamiento a 90

°C durante 30 s el patógeno no fue detectable en el jamón. Tampoco se observó crecimiento en estas muestras negativas, las cuales fueron sometidas a pre-enriquecimiento después del tratamiento térmico con el fin de detectar supervivencia de células con daños sub-letales.

Como es lógico, en las reducciones logarítmicas se observó el mismo comportamiento que en la concentración (Cuadro 5). En los tratamientos a 75 y 80 °C se obtuvieron reducciones muy bajas en la concentración del patógeno, sin que se detectaran diferencias ($P > 0.05$) entre los distintos tiempos de retención. En contraste, en los tratamientos a 85 y 90 °C las reducciones logarítmicas aumentaron significativamente ($P < 0.05$) con el tiempo de retención, hasta alcanzar el máximo en el régimen de 90 °C durante 30 s.

DISCUSIÓN

Las temperaturas máximas de la superficie de jamón en los tratamientos a 75 y 80°C no alcanzaron valores letales como para reducir la concentración del patógeno en los tiempos de retención estudiados. Lo anterior es congruente con lo observado en otros experimentos^{27, 28} en los que se han obtenido tiempos de reducción decimal para *Listeria* de varios minutos en temperaturas similares, aunque con otros productos diferentes al jamón. De la misma manera, Miller et al.²⁹ coincidieron que para lograr letalidad sobre este patógeno a temperaturas entre 52 a 65 °C se requieren varios minutos de retención. Murphy et al.³⁰ reportaron resultados similares en carne picada y en piel de pollo. Los resultados de este experimento confirman, por tanto, que estos regímenes de tratamiento térmico en la etapa de termoencogido no son técnicamente factibles en la práctica industrial. El empleo de temperaturas tan bajas obligaría a retener el jamón durante mucho más tiempo en el agua de inmersión para poder alcanzar un efecto letal en la superficie del producto. Lo anterior se traduciría en un detrimento inaceptable de la productividad, que difícilmente sería aceptado por las empresas.

El tratamiento a 85°C produjo una reducción sostenida en la concentración de *Listeria* hasta los 30 s de retención. Sin embargo, la reducción máxima

alcanzada fue de 1 log. Este efecto también se puede considerar como insuficiente. Si se toma en cuenta que se ha reportado una concentración del patógeno en jamón empacado de 10 UFC/cm² en punto de venta¹⁸, después de una reducción logarítmica el patógeno continuaría siendo detectable en 25 g de muestra. De tal manera que el tratamiento del jamón a 85°C tampoco parece ser una alternativa viable con la práctica industrial, a menos que la industria decidiera optar por utilizar tiempos de retención más prolongados. Bunning³¹ reporta que las células de *L. monocytogenes* deben alcanzar temperaturas mínimas de 71.2°C para que se presente el choque térmico. De la misma forma, las reducciones se observan cuando las temperaturas superficiales rebasan los 71°C y se hacen más evidentes conforme la temperatura aumenta.

El tratamiento a 90°C produjo el mayor aumento de temperatura superficial en el jamón (hasta 75.5°C). Tomando en cuenta el escenario de contaminación descrito anteriormente en jamón empacado en punto de venta (10 UFC/cm²), se requerirían un mínimo de tres reducciones decimales en la concentración de *L. monocytogenes* para que ésta no fuera detectable en la unidad analítica (25 g). De esto se desprende que sólo cuando el jamón se retiene por 30 s a esta temperatura se alcanzan reducciones que satisfacen los esta condición. Por tanto, los resultados indican que el régimen de termoencogido más acorde con las condiciones industriales es el de emplear agua a $\geq 90^{\circ}\text{C}$ con tiempos de retención ≥ 30 s. Bajo estas condiciones se obtuvieron prácticamente 4

reducciones logarítmicas; valor determinado por el límite de detección del método de análisis que se usó. No obstante, se podría afirmar que la reducción efectiva fue de 4 a 5 log. Ello obedece a que no se observó crecimiento en las muestras negativas que se sometieron a pre-enriquecimiento con el fin de detectar supervivencia de células con daños subletales. Bunning³¹ reportó que cuando las células de *L. monocytogenes* se exponen a 75°C la letalidad es casi inmediata. En este experimento, la exposición del jamón a 90°C por 30 s elevó la temperatura superficial del producto por encima de 75°C. De la misma manera, McCormick²⁷ y Murphy²⁶ reportan reducciones mayores a los 6 log a temperaturas similares a las alcanzadas en este trabajo para el tratamiento a 90°C.

Al observarse la letalidad alcanzada en el experimento en condiciones de laboratorio, los resultados sugieren que el termoencogido podría adaptarse para su aplicación a escala industrial, como una intervención contra *L. monocytogenes*. Por lo tanto, esta etapa podría incluirse como punto crítico de control en los planes HACCP de establecimientos que procesen jamón cocido de pavo expuesto a contaminación post-letal.

Entre las ventajas de la intervención aquí propuesta, está la utilización de temperaturas que ya son aplicadas por las plantas de proceso, así como tiempos de retención lo suficientemente cortos (30 s) que facilitan su aplicación en línea, para el tratamiento pieza por pieza. En comparación con tratamientos

con radiaciones o post pasteurizaciones, el termoencogido puede ser adaptado como intervención con mayor facilidad y seguramente a un costo mucho más bajo, incluso comparado con la post pasteurización, pues requiere de mucho menos tiempo de retención del producto. El impacto negativo en la productividad y en el costo de producción sin duda será sensiblemente menor si se usa el termoencogido bajo el esquema propuesto en el presente trabajo que si se aplican radiaciones o procesos de post pasteurización. No obstante, es preciso verificar la eficacia de esta intervención a escala industrial, donde los factores de variación son más numerosos en relación con una prueba de laboratorio realizada bajo condiciones controladas.

CONCLUSIONES

En el presente experimento se ha validado la operación de la etapa de termoencogido con agua a $\geq 90^{\circ}\text{C}$, por tiempos de retención ≥ 30 s, como una intervención eficaz para reducir la concentración *L. monocytogenes* a niveles no detectables en jamón cocido de pavo expuesto a contaminación post-letal. Este hallazgo puede servir como orientación para el diseño de planes HACCP en empresas que elaboren este tipo de producto.

REFERENCIAS

1. FARBER J & PETERKIN P. *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol Rev* 1991;55:476-511.
2. Food and Drug Administration [home page on the internet]. *Listeria monocytogenes* Risk Assessment. Appendix 8: Growth of *Listeria monocytogenes* in Foods [cited 2011 Jul 10]. Available from: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/ResearchAreas/RiskAssessmentSafetyAssessment/ucm185203.htm>
3. HERNÁNDEZ SV. Manual de diagnóstico microbiológico de *Listeria monocytogenes* (tesis de licenciatura). México (D. F.) México: Facultad de Estudios Superiores de Zaragoza, UNAM, 2008.
4. Iowa State University [home page on the internet]. Listeriosis [cited 2011 May 20]. Available from: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/listeriosis.pdf>.
5. CHRIS B. 1998. *Listeria* una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos. Zaragoza, Editorial Zaragoza. pp.
6. FAO/OMS. 2004. Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. Resumen Interpretativo. Serie de Evaluación de Riesgos Microbiológicos 4. Roma, FAO/OMS. 55 pp.
7. Canadian Food Inspection Agency [home page on the internet]. *Listeria* investigation and recall 2008 [cited 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.inspection.gc.ca/english/fssa/concen/2008listeriae.shtml>
8. Food Safety and Inspection Service [home page on the internet]. Recall case archive [cited 2011 Jul 10]. Available from: http://www.fsis.usda.gov/Fsis_Recalls/Recall_Case_Archive/index.asp
9. Electronic Code of Federal Regulations [home page on the internet]. 9 CFR 430.4: Requirements for specific classes of product- Control of *Listeria monocytogenes* in post – lethally exposed ready- to- eat products [cited 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.ecfr.gov/cgi-bin/ECFR?page=browse>

10. Food Safety and Inspection Service [home page on the internet]. Una firma en Maine retira del mercado productos de jamón cocido debido a una posible contaminación con *Listeria monocytogenes* [cited 2010 Dec 2]. Available from: http://www.fsis.usda.gov/PDF/RC_068-2009.pdf
11. Secretaría Distrital de Salud [home page on the internet]. Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en derivados cárnicos listos para el consumo analizados en el laboratorio de Salud Pública, Colombia [cited 2011 Jul 15]. Available from: <http://www.docstoc.com/docs/3180422/prevalencia-de-listeria-monocytogenes-en-derivados-carnicos-cocidos-para-consumo>
12. BREDHOLT S NT, HOLCK A. Protective cultures inhibit growth of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in cooked, sliced, vacuum- and gas-packaged meat. *International Journal of Food Microbiology* 1999;53:43-52.
13. SAB M. Incidencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos (tesis de licenciatura). México (D. F.) México: Universidad Nacional Autónoma de México, 2007.
14. Diario Oficial de la Unión Europea [home page on the internet]. Reglamento (CE) nº 1441/2007 de la Comisión. Criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios [cited 2011 Nov 2]. Available from: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:322:0012:0029:ES:PDF>
15. Norma Oficial Mexicana NOM-158-SCFI-2003. Jamón-Denominación y clasificación comercial, especificaciones fisicoquímicas, microbiológicas, organolépticas, información comercial y métodos de prueba. *Diario oficial de la Federación*, 14 Agosto 2003.
16. Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2002. Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. *Diario Oficial de la Federación*, 11 julio 2005.
17. NORMA Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. *Diario Oficial de la Federación*, 27 septiembre 2010.
18. ANGELIDIS A & KOUTSOUMANIS K. Prevalence and Concentration of *Listeria monocytogenes* in Sliced Ready-to-Eat Meat Products in the Hellenic Retail Market. *Journal of Food Protection* 2006;69:938-942.

19. MAHMOUD BSM. The effects of X-ray radiation on Escherichia coli O157:H7, Listeria monocytogenes, Salmonella enterica and Shigella flexneri inoculated on whole Roma tomatoes. Food Microbiology 2010;27:1057-1063.
20. GURSEL B & GURAKAN G. Effects of gamma irradiation on the survival of Listeria monocytogenes and on its growth at refrigeration temperature in poultry and red meat. Poult Sci 1997;76:1661-4.
21. ZHU M, MENDOCA A, ISMAIL H, DU M, LEE E & AHN D. Impact of Antimicrobial ingredients and radiation on the Survival of Listeria monocytogenes and Quality of Ready-to- Eat Turkey Ham. Poult Sci 2005;84:613-620.
22. RUIZ A, WILLIAMS S, DJERI N, HINTON A, JR & RODRICK G. Nisin affects the growth of Listeria monocytogenes on ready-to-eat turkey ham stored at four degrees Celsius for sixty-three days. Poult Sci 2010;89:353-8.
23. MARTIN E, GRIFFIS C, VAUGHN K, O'BRYAN C, MARCY J, RICKE S, CRANDALL P & LARY R. Control of Listeria monocytogenes by lauric arginate on frankfurters formulated with or without lactate/ diacetate. Journal of Food Science 2009;74:237-241.
24. FDA [home page on the internet]. BAM: Detection and enumeration of Listeria monocytogenes [cited 2010 Nov 17]. Available from:<http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.htm>
25. Dirección General de Salud, Perú [home page on the internet]. Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas [cited 2010 Oct 2]. Available from:[http://www.peruhaciendocalidad.pe/publicaciones/RM_461_2007%20UPERFICIES.pdf](http://www.peruhaciendocalidad.pe/publicaciones/RM_461_2007%20SUPERFICIES.pdf)
26. MURPHY R, DUNCAN L, BERRANG M, MARCY J & WOLFE R. Thermal Inactivation D- and Z-Values of Salmonella and Listeria innocua in Fully Cooked and Vacuum Packaged Chicken Breast Meat during Postcook Heat Treatment. Poult Sci 2002;81:1578-1583.
27. MCCORMICK K, HAN I, ACTON J, SHELDON B & DAWSON P. D and z-values for Listeria monocytogenes and Salmonella typhimurium in packaged low-fat ready-to-eat turkey bologna subjected to a surface pasteurization treatment. Poult Sci 2003;82:1337-42.

28. LI M, ABANI P, LISA C & YANBIN L. Effectiveness of Hot Water Pasteurization for Thermal Inactivation of *Listeria* on Fully Cooked and Vacuum Packaged Chicken Breast Meat Products. ASAE Annual Meeting, 2007 Minneapolis.
29. MILLER A, BAYLES D & EBLEN B. Cold shock induction of thermal sensitivity in *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol* 2000;66:4345-50.
30. MURPHY R, OSAILI T, DUNCAN L & MARCY J. Thermal inactivation of *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in ground chicken thigh/leg meat and skin. *Poult Sci* 2004;83:1218-25.
31. BUNNING VK, CRAWFORD RG, TIERNEY JT & PEELER JT. Thermotolerance of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* after sublethal heat shock. *Appl Environ Microbiol* 1990;56:3216-9.
32. PEIRIS W. *Listeria monocytogenes*: a Food-Borne Pathogen (tesis de licenciatura). Uppsala, Suiza: Uppsala University, 2005.
33. Ministerio de Salud de Chile [home page on the internet]. Informe de *Listeria* [cited 2011 Ago 10]. Available from:http://epi.minsal.cl/epi/html/bolets/reportes/Listeriosis/listeria%20informe%20%20_2010_.pdf
34. MURIANA P, QUIMBY W, DAVIDSON C & GROOMS J. Postpackage pasteurization of ready-to-eat deli meats by submersion heating for reduction of *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot* 2002;65:963-9.

Cuadro 1. Número de casos de listeriosis asociados con diferentes alimentos a escala mundial (período 1990-2009)

Producto	Casos (muertes)	País	Año
Pate	>350(>90)	Reino Unido	1990
Lengua de cerdo	279(63)	Francia	1992
Mejillones ahumados	4(2)	Nueva Zelanda	1992
Leche con chocolate	45(0)	EUA	1994
Queso fresco	20(4)	Francia	1995
Perros calientes	x(8)	EUA	1998
Carne, Cecina	57(22)	Canadá	2008
Quesos blandos	119(0)	Chile	2008
Cecinas	45(9)	Chile	2009

Fuente de los datos^{32, 5, 33}

Cuadro 2. Efecto de la inmersión en agua caliente sobre la concentración de *Listeria monocytogenes* en diferentes productos inoculados con el patógeno

Fuente	Producto	Inóculo de <i>L. monocytogenes</i>	Observaciones
McCormic K. <i>et al.</i> ²⁷	Embutido de pavo bajo en grasa	10 ⁸ UFC	Patógeno no detectable después de tratar el producto a 85°C/15 s.
Murphy R. Y. <i>et al.</i> ³⁰	Pierna, muslo y piel de pollo	10 ⁷ UFC / g	Se reporta un valor D _{70°C} = 0.04 min (2.2 s).
Muriana P. M. <i>et al.</i> ³⁴	Pavo ahumado, roast beef, jamón ahumado	10 ⁷ -10 ⁸ UFC	Reducción de 2-4 log a 90-96 °C/2 min.

Cuadro 3

Efecto del tiempo de retención en agua caliente en la temperatura superficial del jamón (n=3)

Temperatura, °C	Tiempo de retención, s			ES ±
	20	25	30	
75	60.3 ^b	62.5 ^a	64.2 ^a	0.85 ^{**}
80	64.8 ^c	67.3 ^b	70.5 ^a	0.88 ^{***}
85	68.3 ^c	70.4 ^b	72.3 ^a	0.75 ^{***}
90	70.2 ^c	73.6 ^b	75.5 ^a	0.31 ^{***}

P<0.01; *P<0.001

^{a, b, c} Medias con letras diferentes en una misma fila difieren significativamente (P<0.05)

Cuadro 4

Efecto del tiempo de retención en agua caliente a diferentes temperaturas sobre la concentración de *Listeria monocytogenes* (log UFC/cm²) en el jamón (n=3)

Temperatura, °C	Tiempo de retención, s				ES ±
	0	20	25	30	
75	4.89 ^a	4.67 ^b	4.73 ^b	4.64 ^b	0.08**
80	4.93 ^a	4.67 ^b	4.54 ^b	4.59 ^b	0.08***
85	4.92 ^a	4.51 ^b	4.28 ^c	3.90 ^d	0.10***
90	4.91 ^a	3.09 ^b	2.23 ^c	< 1 ^{d1}	0.13***

¹ El límite de detección del método utilizado fue de 1 log UFC. A los 30 s de retención a 90 °C el patógeno no fue detectable. Para fines de análisis este dato se registró como 1 log UFC.

P<0.01; *P<0.001

a, b, c Medias con letras diferentes en una misma columna difieren significativamente (P<0.05)

Cuadro 5

Reducciones (log UFC) en la concentración de *L. monocytogenes* alcanzadas a las diferentes temperaturas y tiempos de retención del jamón en agua caliente (n = 3)

Temperatura, °C	Tiempo de retención, s			ES ±
	20	25	30	
75	0.24	0.18	0.26	0.08
80	0.24	0.37	0.32	0.08
85	0.40 ^c	0.63 ^b	1.01 ^a	0.10***
90	1.82 ^c	2.67 ^b	>3.91 ^{a1}	0.13***

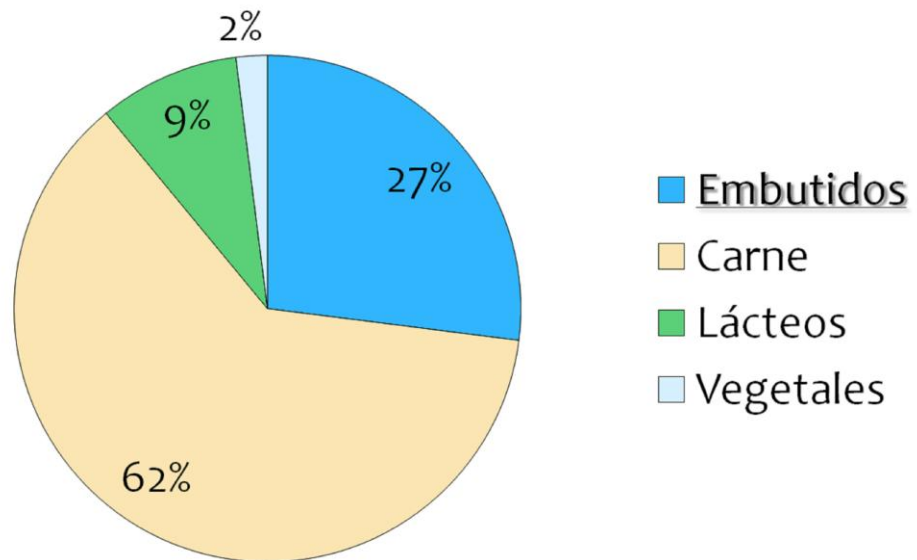
¹ El límite de detección del método utilizado fue de 1 log UFC. A los 30 s de retención a 90 °C el patógeno no fue detectable. Para fines de análisis este dato se registró como 1 log UFC.

***P<0.001

a, b, c Medias con diferente superíndice en una misma columna difieren significativamente (P<0.05).

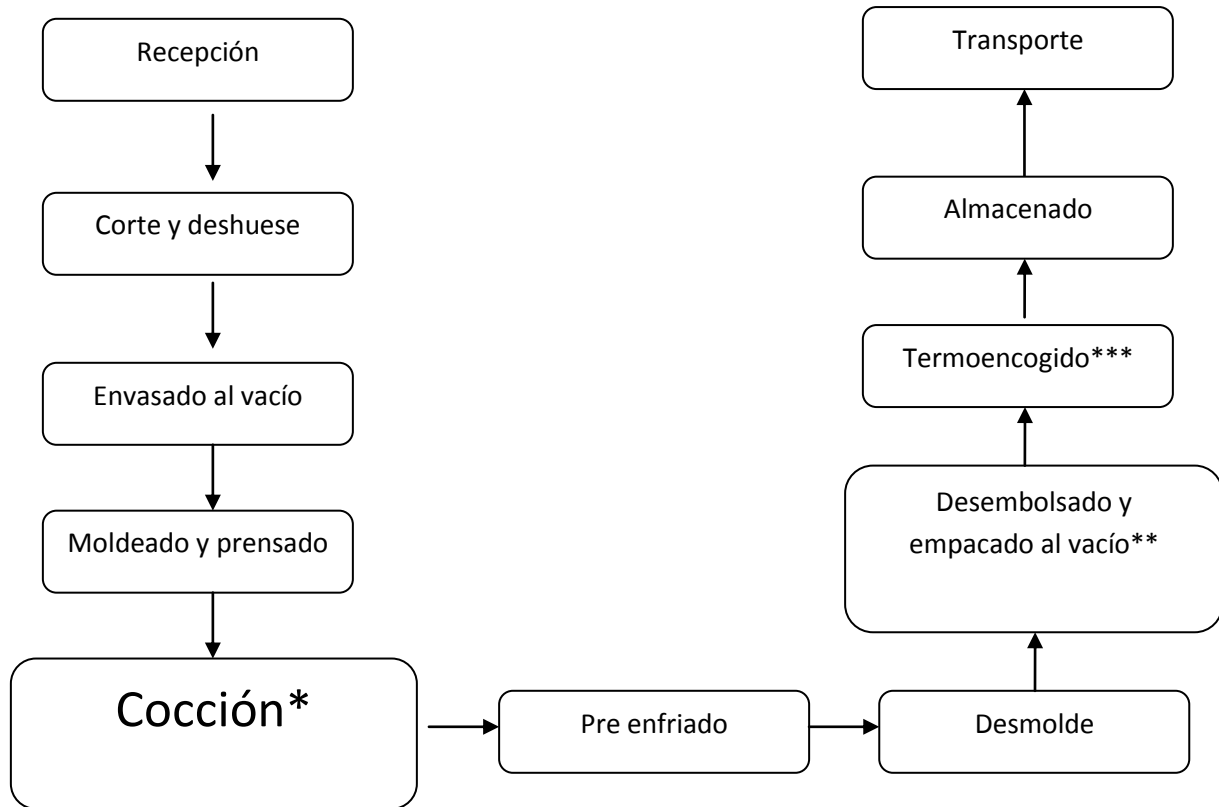
Figura 1

Frecuencia de retiros de mercado asociados con la presencia de *L. monocytogenes* en diferentes alimentos, EEUU (2008- 2011).



Fuente de los datos: FSIS⁸

Figura 2. Diagrama de flujo de producción de jamón cocido



*Etapa Letal. Durante esta etapa la *L. monocytogenes* que pudiera estar presente es eliminada en 100% del jamón.

**Durante esta etapa es posible una re-contaminación del jamón con el patógeno, debido a que se expone al ambiente en planta de producción durante este procedimiento.

***Termoencogido. Etapa a evaluar debido a que en esta etapa se el producto se vuelve a someter a temperaturas elevadas.

Figura 3. Patogenia de *Listeria monocytogenes*

