



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**"IDENTIFICACION DE MICROORGANISMOS
INDICADORES DE MANEJO SANITARIO EN
CARNE DE CERDO FRESCA Y CONGELADA"**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A:
EDUARDO GONZALEZ CORDOVA

**ASESOR
M.V.Z. JORGE LOPEZ PEREZ:**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1997



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.



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
 AVENIDA DE
 MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
 FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
 EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
 DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
 P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 20 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:
"Identificación de microorganismos indicadores de riesgo sanitario en carne de cerdo fresca y congelada".

que presenta el pasante: Eduardo González Cárdena
 con número de cuenta: 0060170-9 para obtener el TITULO de:
Médico Veterinario Zootecnista

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
 "POR MI PAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlan Izcalli, Edo. de Mex., a 27 de Octubre de 199 7

PRESIDENTE	MVZ. Jorge López Pérez	
VOCAL	MVZ. Gilberto Ochoa Uribe	
SECRETARIO	MVZ. Dora Luz Pantoja Carrillo	
PRIMER SUPLENTE	MVZ. Silvano Trejo Nuñez	
SEGUNDO SUPLENTE	MVZ. Martha Elizabeth Pérez Arias	

AGRADECIMIENTOS

A los MVZ Jorge López Pérez y Dora Luz Pantoja Carrillo, por brindarme su amistad, apoyo y comprensión en forma desinteresada durante estos últimos años.

A los MVZ Martha Elizabeth Pérez Arias, Esperanza García López y Joaquín Rivera Quiroz, por todas las experiencias que compartimos.

Al Ing. Angel Santisteban Ardura, por su apoyo y comprensión para la realización de este trabajo.

Al Ing. Juan Garibay Bermúdez, por su valiosa asesoría en la elaboración del diseño estadístico y el análisis de resultados de este trabajo.

A la L. N. Adriana Llorente Bousquet por compartir sus conocimientos y experiencias en el área de Microbiología de Alimentos.

A todas aquellas personas que me brindaron su apoyo para la realización de este trabajo.

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

Quienes a base de lucha, sacrificios y cariño pusieron a mi alcance las herramientas para poder salir adelante en la vida. Con admiración y respeto les ofrezco un merecido reconocimiento a través de este trabajo.

A MIS HERMANOS:

Por los momentos inolvidables que compartimos.

A GUADALUPE:

Por brindarme su comprensión y cariño en todo momento.

ÍNDICE

	PÁG.
I.- RESUMEN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
CAPITULO I.....	3
1.- Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos	3
1.1 Antecedentes históricos.....	4
1.2 Conceptos	5
1.3 Principios básicos.....	7
CAPITULO II.....	15
1. Papel de los microorganismos en los alimentos.....	15
CAPITULO III	17
1. La carne como medio de cultivo para microorganismos.....	17
1.1 Composición química de la carne	17
CAPITULO IV	19
1. Fuentes de contaminación de la carne.....	19
CAPITULO V	20
1. Microflora de la carne	20
2. Crecimiento y multiplicación bacteriana.....	20
3. Factores microecológicos.....	21
3.1 Factores intrínsecos.....	21
3.2 Factores extrínsecos	28
3.3 Interacciones entre los factores microecológicos.....	31

III. OBJETIVOS.....	33
IV. MATERIAL.....	34
V. MÉTODO.....	37
VI. RESULTADOS.....	40
VII. DISCUSIÓN.....	59
VIII. CONCLUSIONES.....	69
IX. RECOMENDACIONES.....	71
X. ANEXO.....	72
XI. BIBLIOGRAFÍA.....	75

I. RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la frecuencia de presentación de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* y enterococos en carne de cerdo fresca y congelada; además se llevó a cabo la determinación de la temperatura y pH para detectar si estos factores influyen significativamente sobre la presencia de *Salmonella sp.* y los conteos de *Staphylococcus aureus* y enterococos, con la finalidad de ser utilizadas como pruebas rápidas de verificación al momento de la recepción de la materia prima cárnica, como parte de la implementación del sistema Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos (HACCP en inglés) en una planta procesadora de derivados cárnicos.

En una empacadora ubicada al noreste del Distrito Federal se llevó a cabo la obtención de 30 muestras de diversos cortes de canal de cerdo aplicando un muestreo probabilístico estratificado; además, se detectaron y registraron los valores de temperatura y pH de las muestras seleccionadas, mientras que las determinaciones microbiológicas se efectuaron en el Laboratorio de Medicina Preventiva (L-811 y L-812) de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M., de acuerdo a los procedimientos señalados por las normas oficiales mexicanas y el ICMSE.

Los resultados obtenidos fueron procesados estadísticamente con el apoyo del paquete estadístico SAS, llevándose a cabo la descripción de los hallazgos (estadística descriptiva) para todas las variables en estudio y el análisis estadístico de los resultados, mediante el empleo de correlaciones lineales simples y múltiples, comparación de medias con muestras independientes y diseño completamente al azar desbalanceado con prueba de Tukey.

La frecuencia de presentación de los microorganismos en estudio fue la siguiente: en cortes frescos se encontraron *Staphylococcus aureus* en el 35.71% de las muestras, mientras que *Salmonella sp.* y enterococos se detectaron en el 7.14% y 100% respectivamente. En el caso de los cortes congelados, el 25% de las muestras fueron positivas a la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* en 6.25% y enterococos en el 100%.

En los cortes frescos se encontró una relación altamente significativa entre temperatura y pH con la presencia de *Salmonella sp.*, ya que se obtuvo un valor de $r^2 = 72.69\%$.

Con base en los resultados obtenidos en el presente estudio, los hallazgos reportados en un estudio similar realizado con microorganismos mesófilos aerobios por Rivera en la misma empacadora y la información recopilada en la bibliografía especializada, la temperatura y pH son variables que deben ser consideradas puntos críticos de control y por lo tanto deben ser monitoreados en forma permanente y rutinaria al momento de la recepción de la materia prima cármica.

II. MARCO TEÓRICO

CAPÍTULO I

1. ANÁLISIS DE RIESGO Y CONTROL DE PUNTOS CRÍTICOS.

Los problemas microbiológicos relacionados con los alimentos (putrefacción y transmisión de enfermedades) suelen ser en la mayoría de los casos consecuencia de errores durante la manipulación y procesamiento de los mismos (17).

En México, los padecimientos gastrointestinales originados por consumo de alimentos se encuentran dentro de las cinco principales causas de mortalidad y de éstas cerca del 70 a 80% son de origen bacteriano (21).

La presencia de microorganismos en la carne no implica necesariamente que el consumidor esté en peligro o que ésta sea de una calidad inferior; sin embargo los alimentos se convierten en potencialmente peligrosos cuando no han sido consideradas las buenas prácticas de manufactura y fabricación y los principios de limpieza y sanitización.

Si los alimentos fueron sometidos a condiciones en que se permitió la multiplicación de microorganismos considerados como saprófitos o la llegada de agentes infecciosos o toxigénicos, pueden constituirse como vehículo de transmisión de enfermedades tales como salmonelosis, intoxicación estafilocócica o padecimientos originados por la acumulación de sustancias tóxicas formadas a partir de la degradación de los constituyentes orgánicos de los alimentos (16).

El análisis microbiológico tiene un origen reciente si se toma en consideración la histórica relación del hombre con la alteración de los alimentos y con las enfermedades por ellos transmitidas. No obstante, en la actualidad se utilizan rutinariamente sirviendo en algunos casos como único referente de la calidad sanitaria de la materia prima al momento de la recepción, así como en diversas fases del procesamiento y hasta el alimento ya preparado.

Sin embargo, no es práctico llevar a cabo análisis microbiológicos en forma rutinaria y masiva; por el contrario, ello presenta graves limitaciones:

1. En la mayoría de los casos se tiene conocimiento de los resultados cuando ya se ha procesado la materia prima.
2. El costo que representa llevar a cabo el examen microbiológico.
3. El número limitado de laboratorios que cuentan con la capacidad técnica para llevar a cabo dichas determinaciones.
4. El problema que representa la toma de muestras y el análisis de un número suficiente de unidades de muestra para obtener una información significativa sobre el estado microbiológico de un lote (49).

Considerando lo anterior surge la necesidad de centrar el interés sobre aquellos factores que influyen directamente en la inocuidad microbiológica (monitoreo de los puntos críticos) mediante procedimientos que sean rápidos, baratos, fáciles y que además sean confiables.

El sistema Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos ofrece un planteamiento racional para el control de los riesgos, especialmente para los de origen bacteriano, evitando las múltiples limitaciones inherentes a la inspección y disminuyendo los inconvenientes que presenta la realización masiva de análisis microbiológicos.

Dicho sistema contempla la opción de trabajar con una serie de registros de variables físicas y químicas que se pueden determinar en forma rutinaria (bajo costo, rapidez y facilidad). Para poder establecer la posible relación de éstas con la presencia de microorganismos potencialmente patógenos o con el grado de contaminación. En el caso particular de la carne, cumplir este objetivo es muy importante pues este producto se considera como un ingrediente sensitivo desde el enfoque del análisis de riesgos, ya que se encuentra histórica y estadísticamente asociada con numerosos problemas originados por riesgos de origen microbiológico.

1.1 Antecedentes históricos.

El sistema conocido como Análisis de Riesgo y Control de Puntos Críticos (A.R.C.P.C.) o Hazard Analysis and Critical Control Points (H.A.C.C.P.) en inglés, surge en los Estados Unidos de América durante la década de los años sesenta ante la necesidad existente de poder llevar a cabo un control integral de los alimentos que eran utilizados en los programas espaciales y por las fuerzas armadas. Dicho procedimiento fue desarrollado gracias a la participación de la Compañía Pillsbury en colaboración con la

Agencia Nacional de Aeronáutica y del Espacio (NASA) y los laboratorios de investigación de la armada. (21, 41)

Este procedimiento fue presentado en la primera Conferencia Nacional sobre Protección a los Alimentos en 1971 (17) y los detalles del sistema fueron publicados en 1974 (41), sin embargo el sistema HACCP se consideró para ser aplicado en forma extensiva en la industria de los alimentos hasta 1985 (21) y en este mismo año el Subcomité Consultivo Nacional de Investigación de Estados Unidos de la Academia Nacional de Ciencias señaló que la "aplicación de el sistema HACCP propociona el enfoque más específico y crítico para el control de riesgos microbiológicos presentes en los alimentos y el uso de este sistema debería ser incorporado por la industria. Además, este subcomité consideró que las agencias responsables del control de riesgos microbiológicos deberían promulgar una regulación apropiada que debería exigir a la industria utilizar el sistema HACCP en sus programas de protección de los alimentos" (41).

Por otra parte, la Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) sugirió e impulsó la implantación de dicho sistema para el control de los alimentos en América latina a través de su organismo regional, la Oficina Panamericana de la Salud (O.P.S.) siendo en la actualidad considerado dentro de ciertos referentes alimentarios tales como el *Codex Alimentarius* (21) y la Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para Alimentos (21).

1.2 Conceptos.

⇒ **Riesgo (estadístico):** Estimación de que puede ocurrir un riesgo.

⇒ **Riesgo:** Cualquier propiedad (entidad) biológica, química o física en un alimento que puede causar daño sanitario inaceptable al consumidor. Ejemplos: Presencia de toxinas, crecimiento y/o supervivencia de microorganismos indeseables.

⇒ **Riesgo significativo:** Postura moderadamente probable de causar un daño inaceptable para la salud.

⇒ **Categoría de riesgo:** Una de las seis categorías de priorización de riesgos basada en riesgos en alimentos.

- ⇒ **Límite crítico:** Una o más tolerancias preescritas que deben alcanzarse para determinar que el control de un punto crítico efectivamente controle un riesgo sanitario microbiológico.
- ⇒ **Punto en control:** Cualquier punto específico en la cadena de producción de alimentos en donde la pérdida de control no conduce a un daño inaceptable para la salud del consumidor.
- ⇒ **Punto crítico:** Cualquier punto o procedimiento en un sistema de alimentos en que la pérdida de control puede provocar un riesgo sanitario inaceptable para el consumidor.
- ⇒ **Monitoreo continuo:** Secuencia planeada de observaciones o mediciones de los límites críticos establecidos, para crear un registro exacto e intentar asegurar que los límites críticos mantengan la seguridad del producto.
- ⇒ **Chequeo momentáneo:** Pruebas suplementarias de verificación para el control de los puntos críticos realizadas con base al azar.
- ⇒ **Desviación:** Fracaso para alcanzar un límite crítico requerido para el control de un punto crítico.
- ⇒ **Plan HACCP:** El documento escrito basado en los principios generales del HACCP y que delinea los procedimientos a ser seguidos para asegurar el control de un proceso específico o procedimiento.
- ⇒ **Sistema HACCP:** Resultado de la implementación del Plan HACCP.
- ⇒ **Verificación:** Métodos, procedimientos y pruebas usadas para determinar si el sistema HACCP es congruente con el Plan HACCP y/o en todo caso si éste último necesita modificarse y revalidarse.
- ⇒ **Ingrediente sensitivo:** Ingrediente históricamente asociado con un riesgo para la salud (evidencia histórica, es decir, estadística de tal asociación).

1.3 Principios básicos.

Cuando el concepto HACCP fue presentado por primera vez en el año de 1971 en la Conferencia Nacional sobre Protección de Alimentos, el sistema estaba constituido por 3 principios básicos:

- ◊ Identificación y estimación de los riesgos asociados con el cultivo, cosecha, comercialización y preparación de los alimentos.
- ◊ Determinación de los puntos críticos de control de los riesgos identificados.
- ◊ Establecimiento de sistemas de monitoreo de los puntos críticos de control.

Fue hasta el año de 1982 cuando el Comité Nacional Consultivo sobre Criterios Microbiológicos para Alimentos incluyó siete principios básicos para el HACCP que se describen a continuación (41):

1.3.1. "Identificación, caracterización, categorización y validación de los riesgos asociados con el cultivo, cosecha, materias primas e ingredientes, procesamiento, manufactura, distribución, mercadeo, preparación y consumo de un alimento". (21).

Este principio permite llevar a cabo una evaluación sistemática de un alimento específico en sus ingredientes o componentes y procesos para poder determinar el riesgo existente, ya sea por la presencia de microorganismos patógenos o sus toxinas.

Dicho análisis permite definir en una secuencia de producción de un alimento los puntos críticos de control en donde es posible eliminar o controlar los riesgos existentes.

En condiciones ideales para poder llevar a cabo el proceso de valoración de los riesgos asociados a los alimentos es necesario:

- a) Hacer una descripción genérica del producto.
- b) Elaborar el diagrama de flujo correspondiente.
- c) Enlistar los ingredientes, procedimientos, equipo, instalaciones y personal.

La caracterización y categorización de los riesgos consiste en lo siguiente:

Caracterizar al alimento de acuerdo a las características de riesgo, identificándolos mediante las letras A hasta la F, utilizando el signo (+) para indicar un riesgo

potencial y (0) si no lo tiene. Dependiendo del número de signos (+) utilizados se determinará la categoría de riesgo.

Característica especial.

Riesgo A. Clase especial de productos no estériles diseñados y destinados para consumo de poblaciones consideradas de alto riesgo, como es el caso de los infantes, ancianos, personas enfermas.

Características generales.

Riesgo B. Productos que contienen ingredientes "sensitivos" en términos de riesgos microbiológicos.

Riesgo C. El proceso no contiene un paso controlado que destruya efectivamente los microorganismos peligrosos.

Riesgo D. El producto puede recontaminarse después de su procesamiento y antes del empaque.

Riesgo E. Los productos pueden ser objeto de un manejo excesivo durante su distribución o por parte del consumidor, provocando que el alimento sea peligroso cuando se consuma.

Riesgo F. Productos a los que, después del empaque o durante su preparación en casa no se les aplica un proceso terminal de calentamiento.

La asignación de la categoría de riesgo está basada en la clasificación por caracterización de riesgo.

Categoría especial.

Categoría VI. Se aplica a los productos no estériles destinados al consumo de poblaciones consideradas de alto riesgo, como el caso de los infantes, ancianos, enfermos.

Se consideran las seis clases de características de riesgo.

Categorías generales.

Categoría V. Alimentos en los cuales se encuentran presentes las características de B a F.

Categoría IV. Productos en los que se encuentran presentes cuatro de las características generales.

Categoría III. Alimentos que presentan tres de las características generales.

Categoría II. Alimentos con dos de las características generales.

Categoría I. Alimentos que presentan una sola de las características generales.

Categoría 0. No existe ningún riesgo.

Es importante señalar que cada uno de los ingredientes que conforman al alimento deben ser tratados de igual manera cuando son recibidos en la planta antes de procesarlos. Lo anterior permitirá determinar las medidas que pudieran reducir el o los riesgos en el sistema de producción. (21, 41)

INGREDIENTE O PRODUCTO	CLASE DE RIESGO	CATEGORÍA DE RIESGO
P1	A+ (Especial)	VI
P2	Cinco (+) (B a F)	V
P3	Cuatro (+) (B a F)	IV
P4	Tres (+) (B a F)	III
P5	Dos (B a F)	II
P6	Uno (+) (B a F)	I

A continuación se desarrollará un ejemplo para facilitar la comprensión del primer principio del Sistema, siendo importante señalar que solamente se desarrollará parcialmente ya que no es el punto central del presente trabajo de tesis.

Identificación de los riesgos.

1. Descripción del alimento.

Producto obtenido de la curación y posterior cocción de la pierna de cerdo, teniendo acceso a este alimento cualquier individuo de las clases sociales media baja a baja.

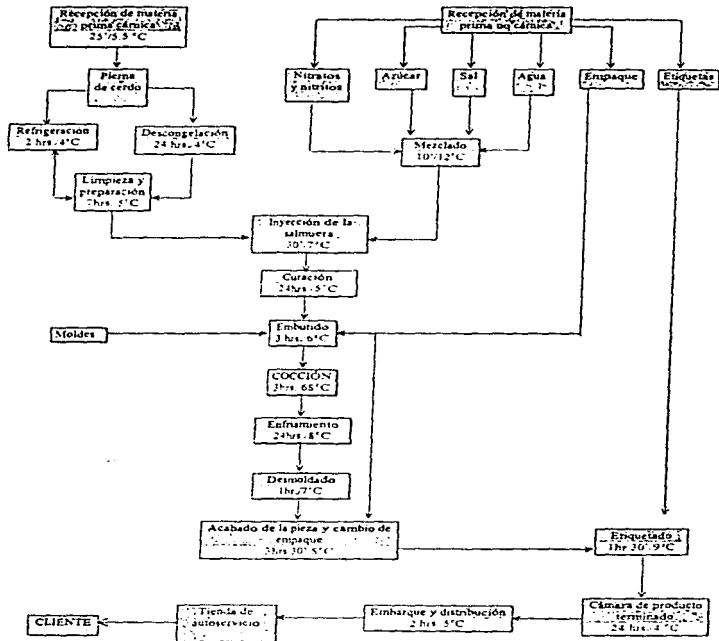
2. Elaboración del diagrama de flujo del producto, en el cual son esquematizadas y explicadas las diferentes etapas de fabricación (ver esquema 1), proporcionando así una visión más amplia del proceso.
3. Elaboración de la lista de ingredientes:

Pierna de cerdo, agua, sal, azúcar, nitratos y nitritos.
4. Elaboración de la lista de equipo
5. Elaboración de la lista de instalaciones
6. Elaboración de la lista del personal
7. Elaboración de la descripción de los sistemas de limpieza y desinfección
8. Elaboración de la descripción de los sistemas para el control de fauna nociva

Con base en la información anterior llevar a cabo la caracterización y categorización de los riesgos.

CARACTERÍSTICAS DE RIESGO

INGREDIENTES	ESPECIAL A	B	C	D	E	F	CATEGORÍA DE RIESGO
Pierna de cerdo	0	+	+	+	+	0	IV
Agua	0	+	+	+	-	+	V
Sal	0	0	0	+	-	+	III
Nitratos y nitritos	0	0	0	+	-	+	III
Azúcar	0	0	0	+	+	+	III
Jamón tipo York	0	+	0	+	+	+	IV



EGC/1997

Esquema 1. Diagrama de Flujo

1.3.2 Determinación de las medidas requeridas para llevar a cabo el control de los puntos críticos asociados a los riesgos identificados. (21)

Los riesgos que fueron identificados por medio del análisis pueden ser controlados en algún o algunos puntos en la secuencia de producción de un alimento.

El control de los puntos críticos está localizado en cualquier ingrediente o punto del proceso en donde se pueden destruir o controlar los microorganismos peligrosos (41).

La Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para Alimentos, conocida como ICMSF en inglés (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) en el año de 1985 consideró la existencia de dos tipos de puntos críticos de control (PCC); los que controlan en su totalidad los riesgos presentes (PCC₁) y los que solamente minimizan pero no eliminan los riesgos (PCC₂).

Dentro de las formas de control de puntos críticos se pueden considerar:

- Tratamientos térmicos en donde la relación tiempo-temperatura puede destruir o disminuir la cantidad de microorganismos. Por ejemplo: pasteurización, cocción.
- Refrigeración y congelación.
- La manipulación del pH en un alimento puede limitar el desarrollo de microorganismos patógenos o la producción de toxinas.
- Higiene tanto del personal como del entorno.
- Prevención de la contaminación cruzada, etc. (18)

1.3.3 Establecimiento de límites críticos que garanticen el control de los puntos críticos identificados.

Es posible que para ejercer el control de un punto crítico sea necesario establecer más de un límite crítico y si alguno de éstos sale de control, se puede provocar un riesgo potencial.

Los criterios más comúnmente utilizados para el establecimiento de los límites críticos son la temperatura, humedad, concentración de sal, pH, acidez titulable, cuentas bacterianas e incluso la textura, aroma y apariencia del producto (41).

1.3.4 Establecer procedimientos para efectuar el monitoreo de los puntos críticos a controlar.

El monitoreo contempla el examen y observación programada del control de un punto crítico y de sus límites, siendo necesario llevar a cabo la documentación de los resultados obtenidos.

Lo anterior es importante ya que es necesario evidenciar si existe algún error en el control de un punto crítico, situación que conduciría a la presencia de un defecto crítico que podría tener consecuencias potencialmente serias.

Para conseguir que este paso sea efectivo en su totalidad, sería necesario que el monitoreo se realizara al 100% lo cual obviamente en la realidad sería imposible si consideramos los riesgos físicos, químicos y microbiológicos. En el caso de los primeros, pudieran realizarse de rutina ya que el costo no es tan alto y el tiempo que implica su determinación no es demasiado, incluso puede establecerse para algunos puntos críticos un sistema continuo, en los químicos y en el caso de las pruebas microbiológicas esto no es aplicable.

Dado que la preparación y el procesado de los alimentos pueden cambiar sus propiedades fisicoquímicas y con esto influir en el desarrollo de los microorganismos presentes en el mismo, pudiera ser factible determinar aquellas constantes fisicoquímicas (pH y temperatura) que pudieran brindarnos cierto grado de seguridad desde el punto de vista microbiológico. (21)

1.3.5. Establecimiento de acciones correctivas cuando se identifiquen desviaciones al momento de monitorear el control de un punto crítico.

Las medidas a tomar están encaminadas a eliminar los riesgos actuales o potenciales originados por desviaciones en el plan. Ante las variaciones existentes en el control de puntos críticos para diferentes alimentos y la diversidad de posibles desviaciones, las acciones correctivas deben ser desarrolladas específicamente para el control de cada punto crítico.

Las acciones implementadas deben demostrar que en verdad el control de un punto crítico ha regresado a un nivel de control y además es necesario ponerlas por escrito e integrarlas al plan HACCP junto con las razones que las originaron. Cuando sea

necesario, el plan original, los registros y las correcciones deberán ponerse a consideración de los organismos de Estado correspondientes para su conocimiento y aprobación.

Cuando sea detectada la desviación, el lote o productos involucrados deberán ponerse en "retención" hasta que se determine si se puede corregir o no. De no conseguirse, se dispondrá del producto de acuerdo a lo establecido en la legislación correspondiente (18, 21, 41).

1.3.6 Establecer sistemas efectivos de registro para documentar el plan HACCP.

El plan HACCP debe ser archivado como expediente por el establecimiento procesador de alimentos junto con cualquier documento relacionado con el control de puntos críticos, desviaciones, correcciones y disposición del producto. Los aspectos sanitarios de registro correspondiente al control de puntos críticos pueden ser consultados por las autoridades sanitarias (18, 21).

1.3.7 Establecer procedimientos para verificar (auditar) que el Sistema HACCP está trabajando correctamente.

La verificación está basada en métodos, procedimientos y pruebas utilizadas para determinar si el sistema tiene concordancia con el plan. Para ello es necesario llevar a cabo mediciones físicas, químicas, organolépticas y pruebas de concordancia con los criterios microbiológicos establecidos y se requiere de la participación de las dependencias públicas implicadas con el productor para que de esta manera en verdad se logre el aseguramiento del producto. (21)

CAPÍTULO II

1. PAPEL DE LOS MICROORGANISMOS EN LOS ALIMENTOS.

Los microorganismos constituyen un elemento importante en los diversos ciclos geoquímicos que tiene lugar en la naturaleza ya que en la mayoría de los casos utilizan los alimentos como una fuente de elementos nutritivos para su multiplicación dando origen a la alteración de los alimentos. El deterioro es producido por el incremento en el número de microorganismos y la utilización de sustancias nutritivas produciendo una serie de nuevos compuestos que van a permitir la reconversión de formas reducidas de carbono, nitrógeno y azufre de los animales (y plantas) muertos; mientras que en otros casos son oxidados para así ser aprovechados por los vegetales que han de ser finalmente consumidos por los animales constituyéndose de este modo un ciclo muy importante para la preservación de la vida en el planeta. (Ver esquema 2). (11)

En otras palabras, el nicho ecológico de los microorganismos (la función y su hábitat) tiene especial importancia en la preservación del estado de climax (equilibrio) en los diversos ecosistemas. Es conveniente entonces enfocar a los alimentos como parte de un ecosistema en el que los microorganismos, especialmente las bacterias, hongos y levaduras, son parte esencial para el mantenimiento de dicho equilibrio, por lo que desde el punto de vista trófico se les clasifica como organismos heterotróficos desintegradores. De ahí la dificultad para la conservación de los alimentos.

CAPÍTULO III

1. LA CARNE COMO MEDIO DE CULTIVO PARA MICROORGANISMOS.

La carne es un alimento que se caracteriza por permitir el desarrollo de diversos microorganismos ya que bajo ciertas condiciones constituye una excelente fuente de metabolitos para bacterias, hongos (mohos) y levaduras. (24).

1.1 Composición química de la carne.

El tejido muscular estriado es uno de los principales componentes de la carne y está constituido por un 75% de su peso en agua (65 al 80%) y el 25% restante de sólidos (3).

Las proteínas constituyen el 16.22% y son el componente principal (80%) de la materia sólida (3, 10) y el resto lo forman extractivos y sólidos inorgánicos. (19).

1.1.1 Proteínas.

Generalmente se clasifican atendiendo a su solubilidad y funciones en miofibrilares, sarcoplásmicas y del estroma (3, 19). Las proteínas miofibrilares son también conocidas como proteínas contráctiles porque desempeñan un papel importante en la contracción muscular y en la locomoción en el animal vivo y, por otra parte, intervienen en el desarrollo del *rigor mortis*.

Las principales proteínas de la fracción fibrilar incluyen la miosina, actinmiosina (resultado de la contracción muscular o durante el desarrollo del *rigor mortis*) y en menor porcentaje la troponina, actina α y β , proteína C y proteína M. Estas proteínas requieren tampones de fuerza iónica media o alta (por ejemplo, cloruro de potasio a una concentración de 0.3) para su extracción (3, 19).

Las proteínas sarcoplásmicas se extraen fácilmente utilizando agua o soluciones salinas a muy baja concentración (.06N). Dentro de este grupo podemos encontrar proteínas que difieren notablemente en sus funciones, tales como: mioglobina, hemoglobina (3), citocromos, enzimas oxidativas mitocondriales, enzimas glicolíticas y enzimas lisosomales.

Por último, las proteínas del estroma (proteínas del tejido conectivo) tienen la función de servir como almacén en el organismo vivo y son en comparación a las anteriores casi insolubles. Esta fracción incluye dos tipos de proteína: (1) colágena, (2) elastina y probablemente la reticulina (19).

1.1.2 Extractivos nitrogenados.

Se cree que los extractivos de este tipo son los que confieren el sabor a la carne e incluyen a la creatina, fosfocreatina, bases púricas, ácido adenílico, camosina, anserina, ácido inosínico, ácido úrico, carnitina, aminoácidos y algunas vitaminas. Muchos de ellos son producidos por las reacciones *post mortem* y por lo tanto no están presentes en cantidades significativas en el animal vivo.

1.1.3 Extractivos no nitrogenados.

El glucógeno es el principal carbohidrato del tejido muscular y según Mitchell constituye hasta el 1.5% del peso del músculo estrado de los mamíferos. Los restantes carbohidratos son mucopolisacáridos asociados a los tejidos conectivo, la glucosa y los productos intermediarios del metabolismo glucolítico.

El contenido de grasas en el músculo es muy variable (1.5 al 13%) y se componen principalmente de lípidos neutros (triglicéridos) y fosfolípidos. La mayoría de los lípidos se localizan extracelularmente en los depósitos del tejido adiposo asociado a los septos del tejido conectivo laxo. (10).

1.1.4 Vitaminas.

La carne es una fuente importante de vitaminas del complejo B (Tiamina, Riboflavina, Niacina, ácido Pantoténico, vitamina B₆, ácido fólico, biotina y vitamina B₁₂) (15) y Ácido Ascórbico, pero no contiene cantidades importantes de vitaminas liposolubles (3).

1.1.5 Minerales.

El músculo contiene numerosos componentes inorgánicos tales como el calcio, magnesio, potasio, sodio, hierro, fósforo, azufre y cloro. (3)

1. FUENTES DE CONTAMINACIÓN DE LA CARNE.

Sin considerar la superficie externa (pelo y piel) y el tracto gastroentérico y respiratorio, los tejidos de los animales vivos están generalmente libres de microorganismos y es raro encontrarlos en vasos sanguíneos, vísceras y vasos linfáticos. Sólo es posible aislarlos en masas musculares profundas cuando la carne proviene de animales enfermos (12, 13, 26). A esta contaminación se le denomina primaria o de origen.

La contaminación secundaria puede presentarse como consecuencia de la penetración de microorganismos en el sistema vascular por el uso de cuchillos contaminados durante el degüello, ya que después de haber cortado los vasos sanguíneos continúa circulando la sangre durante un período de tiempo breve y los microorganismos introducidos pueden diseminarse por el animal.

También es posible que se presente una contaminación subsecuente durante la preparación de la canal, el destazado, procesado, almacenamiento y distribución de la carne (9, 10).

Entre las principales fuentes de contaminación podemos mencionar las pieles, extremidades, estiércol, polvo, agua, equipo, ropa, personal e incluso otros productos cárnicos (9, 26).

Es importante considerar que una vez que los microorganismos se encuentran en la carne es imposible inhibir por completo su actividad cualesquiera que sean las medidas de control aplicadas (10).

CAPÍTULO V

1. MICROFLORA DE LA CARNE.

La microflora de la carne se caracteriza por ser muy heterogénea, estando compuesta por cerca de 20 géneros de bacterias, 10 especies de mohos y algunas levaduras (26).

Aunque los hongos y las levaduras constituyen un problema serio dentro de la industria cárnica (24), las bacterias son las que más frecuentemente causan la descomposición de la carne y problemas de intoxicación en los consumidores (18, 24).

Las bacterias son organismos unicelulares que varían significativamente en forma, desde elongados (espiroquetas) hasta en forma de bastones (bacilos) y formas esféricas (cocos) u ovoides.

Algunas bacterias forman grupos mientras que otras se unen formando cadenas. Hay bacterias que poseen flagelos y por lo tanto son móviles; algunas producen pigmentos que llegan a influir en la coloración anormal de la carne en descomposición y existen otras bacterias capaces de producir esporas.

Las formas cocoides están representadas por los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus*: las bacterias en forma de bastón y no esporuladas como *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Lactobacillus*, *Microbacterium* y *Arthrobacter*. También existen bacterias en forma de bastón con esporas tales como los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, etc (26).

2. CRECIMIENTO Y MULTIPLICACIÓN BACTERIANO.

Las bacterias se dividen por fisión binaria y el tiempo promedio de duplicación (tiempo que transcurre entre dos divisiones sucesivas) para células bacterianas de multiplicación rápida como *E. coli* es de 20 minutos; mientras que para bacterias con una multiplicación lenta llega a ser de hasta 24 horas.

A medida que los nutrientes son consumidos y se acumulan productos de desecho, el ritmo de crecimiento disminuye y es posible observar alteraciones en la morfología celular de las bacterias.

2.1 Fases de crecimiento bacteriano.

El desarrollo de los microorganismos tanto a temperaturas de refrigeración como ordinarias sufre de diversas fases y la duración de cada una de ellas va a depender de las condiciones ambientales existentes.

Fase de latencia (Fase lag): Corresponde a un período de adaptación cuya duración promedio es de 1 a 4 horas (varía según el tipo de microorganismo), el cual se caracteriza por presentar una elevada actividad metabólica y aumento del volumen celular.

Fase logarítmica: Durante esta etapa el ritmo de multiplicación es alto y constante hasta que algún factor ambiental se convierte en limitante (disminución en la cantidad de nutrientes, producción de sustancias tóxicas como consecuencia del metabolismo bacteriano, etc.)

Fase estacionaria: El crecimiento bacteriano alcanza un punto de equilibrio, es decir, el ritmo de multiplicación coincide con el de células muertas y por lo tanto el número de bacterias permanece constante.

Fase letal (fase de declinación): Se caracteriza por haber una disminución en el número de microorganismos vivos. (6, 10, 26)

3. FACTORES MICROECOLÓGICOS.

Existen factores que favorecen o inhiben el desarrollo microbiano en carnes y alimentos en general, los cuales son esenciales para sentar las bases de la conservación (10, 18). Dichos factores los podemos agrupar en factores intrínsecos y factores extrínsecos los cuales serán descritos a continuación:

3.1. Factores intrínsecos.

Son aquellos factores que forman parte inherente tanto de los tejidos de los animales como de las plantas (propiedades físico-químicas).

3.1.1 Concentración de iones hidrógeno (pH).

El grado de acidez o alcalinidad es expresado frecuentemente como pH. El crecimiento de la mayoría de los microorganismos se da en valores cercanos a la neutralidad (pH 7),

aunque cada microorganismo posee un pH mínimo, máximo y óptimo para desarrollarse (Ver cuadro no. 1).

Los mohos son los que toleran un rango de pH más amplio (2.0 a 8.0) aunque su crecimiento lo favorece el pH ácido, mientras que las levaduras se desarrollan en un rango de pH de 4.0 a 4.5.

Por otra parte, las bacterias son organismos muy sensibles a las variaciones de pH (principalmente los patógenos siendo los valores cercanos a la neutralidad los más adecuados para su crecimiento (9, 18, 24), aunque existen ciertas bacterias que tienen la facultad de proliferar a pHs bajos (3.0), como es el caso de los *Lactobacillus* y otras que hacen lo propio en un pH elevado (8.0), ejemplo: *Pseudomonas*.

CUADRO NO. 1
VALORES DE pH APROXIMADOS DE CRECIMIENTO MICROBIANO

MICROORGANISMO	pH		
	MÍNIMO	ÓPTIMO	MÁXIMO
Bacterias (mayoría)	4.5	6.5-7.5	9.0
<i>Acetobacter</i>	4.0	5.4-6.3	-
<i>Clostridium</i>	4.6-5.0	-	-
<i>Escherichia coli</i>	4.3-4.4	6.0-8.0	9.0-10.0
<i>Lactobacillus</i> (mayoría)	3.0-4.4	5.5-6.0	8.2-9.0
<i>Proteus vulgaris</i>	6.0-7.0	7.0	8.4-9.2
<i>Pseudomonas</i> (mayoría)	5.6	6.6-7.0	8.0
<i>Salmonella</i> (mayoría)	4.0-5.0	6.0-7.5	9.0
<i>S. typhi</i>	4.0-4.5	6.5-7.2	8.0-9.0
<i>Staphylococcus aureus</i>	4.0-4.7	-	9.5-9.8
<i>Streptococcus</i> (mayoría)	-	6.2	-
Levaduras	1.5-3.5	4.0-6.5	8.0-8.5
<i>Candida krusei</i>	1.5-2.0	-	-
Hongos filamentosos	1.5-3.5	3.5-5.5	-
<i>Aspergillus</i>	-	3.0-6.8	-

FUENTE: Basic Food Microbiology, 1989.

El pH es un factor que influye en la velocidad de crecimiento de las bacterias ya que altera el funcionamiento de sus enzimas y el transporte de nutrientes al interior de la célula (18).

En el caso de la carne, el pH en condiciones naturales presenta valores cercanos a 7.0, los cuales favorecen el desarrollo de muchas bacterias patógenas y causantes de alteraciones.

Los valores cercanos a 5.5 son desfavorables para el desarrollo de muchas bacterias y más aún si se combinan con otros factores perjudiciales tales como temperatura baja, limitando casi por completo el crecimiento. Sin embargo, las *Pseudomonas*, *Enterobacter* y *Mycobacterium thermosphactum* crecen rápidamente en un rango comprendido entre 5.5 y 7.0.

Durante el crecimiento de los microorganismos se lleva a cabo la formación de una serie de compuestos metabólicos que pueden ser tanto ácidos como alcalinos dependiendo del sustrato, los microorganismos relacionados y el tiempo disponible para el crecimiento, como resultado de estos fenómenos, el pH del medio puede volverse ácido o alcalino.

3.1.2 Actividad acuosa (A_w)

Todos los microorganismos tienen la necesidad absoluta de agua para lograr su crecimiento, es decir, en ausencia de agua el crecimiento microbiano es imposible (9, 10, 24).

La cantidad de agua requerida para el desarrollo de los microorganismos es variable (Ver cuadro No. 2) y se expresa en términos de agua utilizable, libre, no ligada o actividad acuosa (A_w), la cual corresponde al agua que no se encuentra ligada a iones ni solutos y que puede ser aprovechada por los microorganismos para su crecimiento.

CUADRO No. 2
VALORES MÍNIMOS DE A_w COMPATIBLES CON EL CRECIMIENTO DE
MICROORGANISMOS

MICROORGANISMOS	A_w MÍNIMA
<i>Salmonella sp.</i>	0.93 - 0.96
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.84 - 0.92
<i>Escherichia coli</i>	0.94 - 0.97
<i>Clostridium botulinum</i>	0.90 - 0.98
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.96 - 0.98
<i>Penicillium sp.</i>	0.80 - 0.90
<i>Aspergillus sp.</i>	0.68 - 0.88
<i>Fusarium sp.</i>	0.80 - 0.92

FUENTE: Microbiología de los alimentos, 1985

Existen numerosos factores que influyen sobre las necesidades de A_w de los microorganismos y son:

- a) Tipo de soluto empleado para reducir el A_w .
- b) El valor nutritivo del medio de cultivo.
- c) Temperatura.
- d) Potencial de óxido-reducción.
- e) pH.
- f) Presencia de inhibidores.

El efecto de un A_w bajo para las bacterias es el de incrementar la fase lag de crecimiento y disminuir el tamaño de la población. Este efecto puede explicarse ya que las reacciones químicas de la actividad metabólica requieren de un medio acuoso para poder efectuarse (18).

Las bacterias son las más exigentes con respecto al A_w , desarrollándose a valores superiores a 0.91, a diferencia de los mohos y levaduras que crecen a un A_w de 0.80 o menos.

Por otra parte, existen microorganismos que son capaces de crecer en medios con altas concentraciones de solutos (sal y azúcar) y por lo tanto requieren valores bajos de A_w . Las bacterias halófilas requieren concentraciones mínimas de cloruro de sodio para

poder desarrollarse (A_w 0.75), mientras que las levaduras osmofílicas crecen mejor cuando el medio presenta una elevada concentración de azúcar (A_w 0.60).

Desde el punto de vista microbiológico, la propiedad más significativa de la carne fresca es que presenta una gran cantidad de agua libre, correspondiendo a un A_w de 0.99, lo que permite el crecimiento de las bacterias (9).

3.1.3 Potencial de Oxidación-Reducción (Potencial Redox, Eh)

Se refiere a la tendencia de un compuesto de liberar electrones y se mide eléctricamente comparándolo con una sustancia patrón de referencia, generalmente el hidrógeno.

El potencial redox de un alimento depende de la tensión de oxígeno en el alimento y en la atmósfera. El Eh de la carne alcanza de -150 a +250 mV, mientras que en los productos vegetales puede variar entre -383 y +436 mV y para los jugos de frutas de +74 mV.

Para alcanzar un crecimiento óptimo, algunos microorganismos requieren de condiciones de oxidación y otros de reducción, de ahí la importancia del potencial redox.

Los microorganismos aerobios se ven favorecidos por un alto potencial de óxido reducción (reactividad oxidante) entre +350' y +500 mV, mientras que los potenciales bajos (reactividad reductora) de -150mV favorecen el desarrollo de los microorganismos anaerobios estrictos. (1)

Un gran número de especies bacterianas son anaerobias facultativas, es decir, pueden crecer en presencia de oxígeno o en su ausencia.

Algunos microorganismos son conocidos con el nombre de microaerófilos porque solamente inician su crecimiento cuando la tensión de oxígeno se encuentra disminuida.

En el músculo vivo el potencial redox es elevado debido al oxígeno presente en la sangre del animal; pero al morir, cesa el aporte sanguíneo y el contenido de oxígeno disminuye paulatinamente como consecuencia del consumo por parte de los tejidos y, la carne en unas pocas horas *post mortem*, adquiere condiciones de anaerobiosis, excepto una pequeña capa superficial que está expuesta al oxígeno del aire aumentando así su Eh (10, 17).

El metabolismo de los microorganismos determina un Eh más bajo en el medio o sustrato. En el caso de los organismos aerobios y anaerobios facultativos hay una disminución en el valor del potencial redox durante la fase de latencia debido al consumo de oxígeno, pero cuando la bacteria entra en la fase logarítmica la utilización del oxígeno se incrementa provocando un descenso rápido en el Eh.

3.1.4 Contenido de nutrientes.

Además de agua, los microorganismos tienen otras necesidades nutritivas. La mayoría de ellos requieren para su desarrollo de un aporte de nitrógeno, energía, minerales y vitaminas del grupo B.

El nitrógeno generalmente lo obtiene a partir de aminoácidos, pero existen otras fuentes tales como nucleótidos, péptidos y proteínas.

Los carbohidratos, alcoholes e incluso las proteínas y aminoácidos pueden ser utilizados por los microorganismos como una fuente de energía.

Todos los microorganismos requieren de minerales y sus necesidades de vitaminas pueden variar considerablemente. Los mohos y algunas bacterias (principalmente las Gram-) tienen la capacidad de sintetizar una cantidad suficiente de vitamina B; pero en el caso de las bacterias Gram-, requieren de la presencia de bajas concentraciones de la misma en el medio para subsistir.

Como ya fue mencionado con anterioridad, la carne es rica en cada uno de éstos nutrientes y en consecuencia constituye un medio excelente para el desarrollo microbiano. (1, 3, 9, 26, 43)

3.1.5 Inhibidores microbianos.

Los alimentos presentan una serie de agentes que funcionan como inhibidores microbianos, los cuales pueden actuar a diferentes niveles en los microorganismos.

1. Atacando la pared celular.
2. Alterando los mecanismos genéticos y sistemas enzimáticos de las células.
3. Uniéndose a los nutrientes esenciales.

En los tejidos provenientes de los animales es posible encontrar inhibidores bacterianos de diferentes tipos:

- Lisozima.
- Residuos de antibióticos (incluso a bajos niveles).
- Células de defensa y anticuerpos producidos antes de la muerte del animal.
- Polipéptidos básicos con propiedades antibacterianas producidos por el timo, bazo y tiroides.
- Sistemas antiestafilocócicos procedentes del cerebro, bazo, corazón, riñón e hígado.
- Poliaminoácidos básicos sintéticos que presentan actividad viricida y bactericida.
- Las poliaminas (espermina y espermidina) inhiben el desarrollo de microorganismos.
- La progesterona (progesterol) es un antibacteriano de organismos Gram +, mientras que el dietilbrestrol tiene acción bactericida en contra de *Staphylococcus aureus*.
- Ácidos grasos antimicrobianos libres presentes principalmente en productos animales tales como jamones y salchichas. (1)

3.1.6 Flora competitiva.

Los microorganismos que constituyen la microflora de la carne se caracterizan por actuar unos sobre otros, existiendo un dominio de un grupo sobre los demás si se dan las condiciones adecuadas (población dominante).

Si los microorganismos tienen las mismas necesidades de nutrientes y su número es escaso, crecen juntos y no se destruyen. Sin embargo, los que mejor se adaptan a ciertas condiciones ambientales terminan aumentando su velocidad de crecimiento y superan en número a los demás. Cuando los nutrientes se comienzan a agotar progresan los menos activos, es decir, los que tienen un crecimiento pausado.

En el caso de que en el sustrato proliferen microorganismos con una reproducción muy activa, surge el fenómeno del antagonismo.

Se ha observado que algunos microorganismos tienen la facultad de lisar a otros, existiendo muchas cepas de diversas especies y géneros bacterianos (*Pseudomonas*

fluorescens, *Pseudomonas* sp., *E. coli*, *Enterobacter cloacae* y *Staphylococcus* entre otros, poseen cepas que producen compuestos metabólicos con características de antibiótico o inhibitorias denominados bacteriocinas.

Las bacteriocinas se sintetizan bajo condiciones ambientales especiales coincidiendo frecuentemente con las que se dan durante la conservación y almacenamiento de los alimentos. (26)

3.2 Factores extrínsecos.

Los factores extrínsecos de los alimentos son las propiedades inherentes al ambiente de almacenamiento y que afectan tanto a los alimentos como a los microorganismos presentes en ellos.

3.2.1 Temperatura.

Es un factor importante ya que influye en gran medida en el desarrollo y viabilidad de los microorganismos (21).

Cada microorganismo tiene una temperatura de crecimiento óptima así como una mínima y una máxima (Ver cuadro No. 3). (11).

De acuerdo a su capacidad para crecer a diferentes temperaturas los microorganismo suelen clasificarse en cuatro clases:

- **Psicrótrofos:** son aquellos que independientemente de su temperatura de crecimiento óptima, son capaces de multiplicarse con relativa rapidez en los productos refrigerados de 3 a 7 °C.
- **Psicrófilos:** dentro de este grupo existen microorganismos cuyas temperaturas óptimas de crecimiento varían significativamente, en algunos la temperatura óptima está por encima de los 20 °C y en otros, su desarrollo se da por debajo de esta cifra. En el caso de los primeros pueden denominarse psicrófilos facultativos y los segundos, psicrófilos obligados (26)
- **Mesófilos:** son organismos cuya temperatura óptima de crecimiento va desde los 25 a los 45 °C. En la escala mesofílica existen dos grupos de microorganismos. Los

saprófitos cuya temperatura óptima se sitúa entre los 25 y 30 °C; y los patógenos potenciales con una temperatura entre los 35 y 45 °C.

- **Termófilos:** se caracterizan por crecer a temperaturas elevadas, siendo la óptima de 45 °C o más. Dado que la temperatura mínima para los termófilos coincide con el límite superior de los mesófilos, se han denominado como termófilos facultativos, que pueden crecer desde los 37 °C o menos, mientras que los termófilos obligados no.

CUADRO No. 3
LÍMITES DE TEMPERATURA DE CRECIMIENTO DE ALGUNOS
MICROORGANISMOS

MICROORGANISMO	TEMPERATURA °C.		
	MÍNIMA	ÓPTIMA	MÁXIMA
Bacterias			
<i>Acetobacter</i>	5	-	42
<i>Bacillus cereus</i>	10	-	-
<i>Clostridium</i>	0-45	-	60
<i>Salmonella</i>	5-10	35-37	46
<i>Staphylococcus aureus</i>	5-10	35-39	48
<i>Streptococcus faecalis</i>	5-10	37	-
Hongos			
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-10	18-30	55
<i>Penicillium rubrum</i>	-	25-28	-
Levaduras			
<i>Candida</i>	0	-	29-48
<i>Rhodotorula</i>	1-10	-	> 37

FUENTE: Basic Food Microbiology, 1969.

3.2.2 Humedad relativa.

Los microorganismos requieren de agua para poder desarrollarse satisfactoriamente, expresándose estos requerimientos en términos de agua libre o Aw.

La humedad relativa del medio ambiente de almacenamiento influye significativamente en los niveles de Aw del alimento y en consecuencia, sobre el crecimiento microbiano. Cuando la humedad relativa en torno al alimento es inferior al Aw de este último, la superficie del alimento tenderá a desecarse, mientras que cuando la humedad relativa es mayor al Aw del alimento, tenderá a aumentar la cantidad de agua en la superficie del mismo. (17)

De los diversos microorganismos, las bacterias necesitan para su crecimiento óptimo una humedad relativa alta, generalmente mayor al 92%, mientras que las levaduras ocupan una posición intermedia (90%) y por último, los mohos son los menos exigentes requiriendo una humedad relativa del orden del 80 al 85%.

3.2.3 Atmósfera gaseosa.

La presencia o ausencia de oxígeno alrededor de los alimentos determina los diferentes tipos de microorganismos que pueden desarrollarse en el mismo.

Aquellos microorganismos que son completamente dependientes de oxígeno libre se denominan aerobios y los que crecen en su ausencia, anaerobios. Además, existen organismos que pueden crecer en presencia o ausencia de dicho gas y son conocidos como facultativos. Los organismos microaerófilos pueden vivir cuando la concentración de oxígeno es limitada.

En la carne almacenada en atmósfera normal (aire), predominan las condiciones aeróbicas muy cerca de la superficie debido a que es muy difícil la difusión del oxígeno en los tejidos, por lo cual el crecimiento microbiano que tiene lugar en la superficie de la carne es en gran parte de microorganismos aerobios y facultativos, mientras que las porciones internas contienen principalmente bacterias anaerobias y facultativas.

3.2.4 Luz.

Es un factor que influye sobre el desarrollo o no de los microorganismos. La porción ultravioleta de la luz incluye radiaciones de 150 a 390 nm, siendo las longitudes de onda UV de 260 nm las más activas en la producción de estos efectos ya que son absorbidas rápidamente por los ácidos nucleicos de los microorganismos produciéndose daños en los mecanismos celulares de división y en consecuencia las bacterias no son capaces de reproducirse (1). Sin embargo, es necesario tomar en cuenta que el poder de penetración de la radiación ultravioleta es muy limitado en los alimentos semilíquidos y casi nulo en los alimentos sólidos, por lo que su principal aprovechamiento consiste en la destrucción de microorganismos suspendidos en el aire o que se encuentren en superficies (21).

3.3 Interacciones entre los factores microecológicos.

Es poco frecuente que un único factor cause efectos adversos en un microorganismo, por lo cual es muy importante considerar las interacciones factoriales para poder controlar la multiplicación de los microorganismos en los alimentos. Algunos ejemplos de interacciones son los siguientes:

3.3.1 Actividad del agua y nutrientes.

El A_w mínimo para el desarrollo de los microorganismos depende de los nutrientes presentes en el medio. Cristhian en 1995 mostró que el intervalo de A_w para el crecimiento de *Salmonella oranienburg* en un medio de glucosa y sales químicamente definidas era apreciablemente menor que en un caldo nutritivo. Cuando a dicho medio se le adicionaron pequeñas cantidades de prolina se estimuló el crecimiento de la bacteria a 0.97 A_w y permitió que el crecimiento se mantuviera a 0.96. Los niveles mínimos de A_w para los microorganismos son determinados por la cantidad de nutrientes disponibles y considerando que los alimentos difieren significativamente en su contenido nutritivo, los microorganismos son capaces de crecer en algunos alimentos con un A_w menor que el requerido en otros (1).

3.3.2 Actividad del agua y temperatura.

La tolerancia máxima a un A_w bajo se presenta cuando la temperatura de crecimiento para un microorganismo es la óptima. En el caso de que la temperatura se aparte del valor óptimo de crecimiento se reduce la amplitud del A_w .

En cuanto a la supervivencia y multiplicación de *Salmonella*, se aprecia una estrecha correlación entre el A_w y las temperaturas de almacenamiento de la carne y de la harina de hueso, ya que se ha observado que cuando el A_w se acerca al óptimo, la bacteria tolera mejor la temperatura de refrigeración y/o congelación (Lin y cols. 1969) (1).

3.3.3 Actividad del agua y pH.

Cuando el pH se aleja del óptimo, el A_w mínimo necesario para el crecimiento aumenta, ocurriendo lo contrario cuando el valor del pH se acerca al óptimo para el desarrollo del microorganismo (1).

3.3.4 pH y temperatura.

La germinación de esporas de *Clostridium botulinum* tipo E se produce a 15.6 °C y a un pH de 5.4-5.6. Cuando la temperatura desciende a 5 °C, para que germinen las esporas es necesario un pH de 6.2-6.4.

El pH óptimo para la germinación de las esporas de *B. subtilis* cambia radicalmente alterando la temperatura de incubación. El pH óptimo es de 7.4 a 37 °C y 5.4 a 10 °C (1).

3.3.5 Eh y nutrientes.

Los microorganismos modifican sus requerimientos de nutrientes dependiendo de las condiciones de oxidación o reducción que estén presentes en el medio. En el caso del *Staphylococcus aureus*, la necesidad de uracilo es reversible, requiriéndolo anaeróbicamente pero no aeróbicamente (1).

3.3.6 Eh y pH.

Existe una clara relación entre el pH y los sistemas de O-R funcionales en los cultivos bacterianos. Las variaciones presentes en el pH influyen en los límites de Eh para el crecimiento de los microorganismos. Los estafilococos toleran mejor un medio ácido cuando existen condiciones de anaerobiosis. La mayoría de las cepas estafilocócicas inician el crecimiento y producen toxinas cuando se detectan valores de pH de 5.1 cuando crecen aeróbicamente. En condiciones anaeróbicas, es muy difícil que produzcan toxinas con un pH inferior a 5.7. (1)

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detectar la frecuencia de presentación de *Staphylococcus aureus* en carne de cerdo fresca y congelada.
- Detectar la frecuencia de presentación de *Salmonella sp.* en carne de cerdo fresca y congelada.
- Detectar la frecuencia de presentación de enterococos como indicadores de contaminación de materia fecal en carne de cerdo fresca y congelada.
- Determinar la influencia del pH y la temperatura detectados en el desarrollo de *Salmonella sp.*, *Staphylococcus aureus* y enterococos en carne de cerdo fresca y congelada.

OBJETIVO COMPLEMENTARIO

- El presente trabajo forma parte de un proyecto de investigación más amplio el cual pretende establecer el sistema HACCP en carne de cerdo fresca y congelada en una empacadora.

IV. MATERIAL

REACTIVOS.

- Agua destilada.
- Solución de Telurito de Potasio al 1%.
- Emulsión de yema de huevo.
- Solución de Alfa-Naftol al 5%.
- Solución de 2,3,5 Cloruro de Trimetiltetrazolio.
- Reactivo de Kovac.
- Solución salina isotónica.
- Solución de Cloruro de Calcio.
- E. D. T. A.
- Solución de Verde Brillante al 0.1%.
- Solución de Yodo-Yoduro.
- Solución de fenol al 2%.
- Cloruro de Sodio.
- Solución de Hidróxido de Potasio al 40%.
- Tinción de Gram.
- Peróxido de Hidrógeno.
- Solución de Rojo de Metilo.
- Alcohol Etilico.
- Tintura de Yodo al 2%.

MEDIO DE PREENRIQUECIMIENTO NO SELECTIVO.

- Agua de Peptona Tamponada.

MEDIOS DE PREENRIQUECIMIENTO SELECTIVOS.

- Caldo de Selenito y Cistina.
- Caldo Tetracionato.

MEDIOS DE AISLAMIENTO SELECTIVOS.

- Agar Verde Brillante.
- Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD).
- Agar Sulfito de Bismuto.
- Medio Base de Baird Parker.
- Agar Estreptocócico KF.

MEDIOS PARA PRUEBAS BIOQUÍMICAS.

- Agar Triple Azúcar Hierro (TSH).
- Agar Hierro y Lisina (LIA).
- Caldo Urea.

- Agar Citrato de Simmons.
- Medio de Sulfuro, Indol y Movilidad (SIM).
- Caldo Rojo de Metilo-Voges Proskauer (MR-VP).
- Caldo Manitol.
- Caldo Malonato.
- Caldo Infusión Cerebro Corazón (BII).

MATERIAL BIOLÓGICO.

- Carne de cerdo fresca y congelada.
- Cultivo puro de *Staphylococcus aureus*.
- Cultivo puro de *Staphylococcus epidermidis*.
- Plasma de conejo.

MATERIAL NO BIOLÓGICO.

- Vasos de precipitado de 100 y 1000 ml.
- Matraces Erlenmeyer de 250 y 1000 ml.
- Probetas graduadas de 100 y 500 ml.
- Estuche para pipetas.
- Pipetas de .1, 1, 5 y 10 ml.
- Perlas de vidrio.
- Tubos de dilución.
- Frascos de vidrio con tapón de rosca.
- Tubos de ensayo con tapón de rosca.
- Portacajas de Petri.
- Cajas de Petri de 20 ml.
- Varillas de cristal.
- Vasos para licuadora.
- Asa de platino.
- Termómetro de aguja (-20 a 100 °C).
- Refrigerantes.
- Torundas.
- Gasas.
- Papel aluminio.
- Jeringas desechables de 1 y 3 ml.
- Gradillas.
- Mallas de asbesto.
- Parrilla eléctrica.
- Filtros de membrana de .45 micrómetros.
- Frascos ámbar.
- Mango y hojas de bisturi.
- Aguja de disección.
- Pinzas de Kelly.
- Tijeras rectas.

EQUIPO.

- Potenciómetro.
- Balanza granataria.
- Balanza analítica.
- Licuadora.
- Autoclave.
- Estufas para incubación.
- Baño María.
- Mecheros de Bunsen.
- Termo.
- Refrigerador.

V. MÉTODO

Las muestras requeridas para poder llevar a cabo la presente investigación fueron obtenidas en una planta procesadora de alimentos ubicada en el Noreste del Distrito Federal y las determinaciones microbiológicas se llevaron a cabo en el Laboratorio de Medicina Preventiva (L-811 y L-812) perteneciente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M.

Las muestra seleccionada debería tener un comportamiento muy parecido al de la población seleccionada para de esta manera poder reducir al mínimo el error estándar, por lo cual fue propuesto un muestreo de tipo probabilístico estratificado que permitiera que todos los elementos que constituyeran a dicha población tuvieran las mismas posibilidades de ser seleccionados.

Considerando la gran variedad de piezas a muestrear y el costo que implica llevar a cabo un estudio de tipo microbiológico, fue necesario emplear un criterio proporcional simple llevándose a cabo una determinación matemática que permitiera reducir significativamente el número total de muestras requeridas y que además garantizara que los resultados fueran confiables estadísticamente hablando, determinándose un total de 30 muestras de las diferentes piezas procesadas en dicho lugar con base en el Teorema del Límite Central, el cual establece que una muestra estadística resulta significativa con un tamaño de $n \geq 30$ y por lo tanto son válidas las distribuciones muestrales empleadas en la Estadística Inferencial (8).

La selección de las piezas a emplear en el presente estudio se determinó con base en la importancia de las mismas desde el punto de vista comercial, el volumen utilizado en los productos elaborados en la empresa y aquellas que podrían jugar un papel importante como "ingredientes sensitivos" en términos del HACCP; constituyéndose así dos grandes grupos: Cortes Rescos (Tratamiento 1) y cortes congelados (tratamiento 2) (Ver Tabla No. 4).

TABLA No. 4
NÚMERO DE MUESTRAS OBTENIDAS POR CADA TIPO DE CORTE

CORTES FRESCOS	No. DE MUESTRAS	CORTES CONGELADOS	No.DE MUESTRAS
Pierna sin hueso	7	Espadilla	6
Espadilla	3	Recorte especial 80/20	4
Tocino	2	Pierna sin hueso	2
Pierna con hueso	2	Tocino	2
		Caña de lomo	2

EGC/1997

El procedimiento aplicado para llevar a cabo la obtención de las muestras se efectuó de acuerdo a lo establecido en la Norma Oficial Mexicana siguiente:

- NOM-109-SSA1-1994. Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico (39).

Para el análisis microbiológico (Ver anexo) se emplearon:

Salmonella sp.

- Aislamiento: Procedimiento recomendado por la Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas en Alimentos (16).
- Identificación: Se llevó a cabo mediante el empleo las pruebas bioquímicas establecidas en la NOM-114-SSA1-1994. Método de determinación de *Salmonella* en alimentos (36).

Staphylococcus aureus

- Preparación de la muestra. NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico (38).
- Aislamiento e identificación. NOM-115-SSA1-1994. Método para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos (37).

Enterococos

- Método recomendado por el ICMSF (16).

Los resultados obtenidos durante el procesamiento de las muestras fueron tratados estadísticamente mediante el programa estadístico denominado "SAS".

Las pruebas estadísticas aplicadas en los resultados fueron:

1. Promedio y desviación estándar.
2. Correlación lineal simple.
3. Correlación lineal múltiple.
4. Comparación de medias con muestras independientes.
5. Diseño completamente al azar desbalanceado.

VI. RESULTADOS

Producto de las determinaciones realizadas se presentan los resultados obtenidos de las variables en estudio siguiendo un orden de acuerdo a los objetivos planteados y en la secuencia en que el trabajo se desarrolló con la finalidad de facilitar su descripción.

Dado lo anterior y debido a que las muestras obtenidas para su procesamiento en el laboratorio provinieron de diferentes cortes cuyas temperaturas variaron significativamente, fue necesario dividirlos en dos grandes categorías.

1. Tratamiento 1 (cortes frescos).
2. Tratamiento 2 (cortes congelados).

En las Tablas 1 y 2 se indica el número de muestras que resultaron positivas a la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* y enterococos, indicándose además el porcentaje que representan en relación al número total de muestras obtenidas por cada grupo de tratamiento.

Los resultados obtenidos del cálculo de las medidas de tendencia central y de dispersión de los conteos de *Staphylococcus aureus* y enterococos y los valores de temperatura y pH detectados por cada corte fresco y congelado se muestran en las tablas 3 y 4 respectivamente, mientras que las mismas variables, pero por cada grupo de tratamiento, se presentan en las tablas 5 y 6.

Cabe señalar que en el caso de *Salmonella sp.* no se calcularon las medidas de tendencia central y de dispersión debido a que para el presente estudio sólo se determinó su presencia o ausencia sin efectuarse conteo alguno con fundamento en lo requerido por la NOM correspondiente. (36)

Todos los valores obtenidos de las variables en estudio (tablas 7 y 8) tanto en el tratamiento 1 como en el 2 fueron agrupadas de la siguiente manera:

Tratamiento 1 (Fresca)

Variabes independientes

- 1.- Temperatura (X_1)
- 2.- pH (X_2)

Variabes dependientes

- 1.- Conteo de *Staph. aureus* (Y_1)
- 2.- Desarrollo de *Salmonella sp.* (Y_2)
- 3.- Conteo de enterococos (Y_3)

Tratamiento 2 (Congelada)

VARIABLES INDEPENDIENTES

- 1.- Temperatura (X_2)
- 2.- pH (X_4)

VARIABLES DEPENDIENTES

- 1.- Conteo de *Staph. aureus* (Y_2)
- 2.- Desarrollo de *Salmonella sp.* (Y_4)
- 3.- Conteo de enterococos (Y_6)

Lo anterior fue necesario para poder someter los valores a un análisis estadístico analítico, empleando las pruebas de correlación lineal simple y correlación lineal múltiple para detectar la posible relación entre las variables independientes con respecto a las dependientes. Los valores de r^2 que resultaron del cálculo de las correlaciones se presentan en las tablas 9 y 10.

Por otra parte, se llevó a cabo la comparación de las medias de los tratamientos 1 (frescos) y 2 (congelados) con muestras independientes para determinar si éstos se comportan igual con respecto a las variables conteo de *Staphylococcus aureus*, presencia de *Salmonella sp.* y conteo de enterococos, mostrándose los resultados obtenidos de la tabla 11 a la 19.

Por último, se empleó la prueba de diseño completamente al azar desbalanceado y prueba de Tukey para detectar alguna posible diferencia con respecto a los conteos de *Staphylococcus aureus* y enterococos y la presencia de *Salmonella sp.* en los cortes. De la tabla 20 hasta la 25 se presentan los resultados de dichos cálculos.

TABLA 1
 FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN DE *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*
 y ENTEROCOCOS EN CARNE FRESCA

Total de muestras: 14	No. de muestras (+)	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	35.71
<i>Salmonella sp.</i>	1	7.14
Enterococos	14	100

EGC/1997

TABLA 2
 FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN DE *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*
 y ENTEROCOCOS EN CARNE CONGELADA

Total de muestras: 16	No. de muestras (+)	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	25
<i>Salmonella sp.</i>	1	6.25
Enterococos	16	100

EGC/1997

TABLA 3
 MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL Y DE DISPERSIÓN PARA *Staphylococcus aureus* Y ENTEROCOCOS POR CORTE FRESCO

VARIABLES	VALOR MÍNIMO	VALOR MEDIO	VALOR MÁXIMO	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
PIERNA	SIN	HUESO	(n = 7)	
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	100	300	+/- 129.09
Cuenta logarítmica	0	1.0113	2.4771	+/- 1.2626
Enterococos UFC/10g	630	3402.14	9500	+/- 3967.87
Cuenta logarítmica	2.7993	3.1684	3.9777	0.6613
T°C	1	2.57	4	+/- 1.13
pH	5.5	5.82	6.05	+/- 0.1994
ESPA.DILLA		(n = 3)		
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	0	0	+/- 0
Cuenta logarítmica	0	0	0	+/- 0
Enterococos UFC/10g	300	423.33	490	+/- 106.92
Cuenta logarítmica	2.4771	2.6161	2.6904	+/- 0.1205
T°C	0	0.666	2	+/- 1.1547
pH	5.84	5.9733	6.10	+/- 0.1301
TOCINO		(n = 2)		
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	0	0	+/- 0
Cuenta logarítmica	0	0	0	+/- 0
Enterococos UFC/10g	260	345	430	+/- 120.20
Cuenta logarítmica	2.4149	2.5242	2.6334	0.1544
T°C	3	3	3	+/- 0
pH	5.84	6.005	6.140	+/-
PIERNA	CON	HUESO	(n = 2)	
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	630	715	800	+/- 120.208
Cuenta logarítmica	2.7993	2.8512	2.9030	+/- 0.0733
Enterococos UFC/10g	1190	2695	4200	+/- 2128.39
Cuenta logarítmica	3.0755	3.3493	3.6232	+/- 0.3872
T°C	5	7.5	10	+/- 3.5355
pH	5.23	5.56	5.89	+/- 0.4667

TABLA 4
MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL Y DE DISPERSIÓN DE *Staphylococcus aureus* Y ENTEROCOCOS POR CADA CORTE CONGELADO

VARIABLES	VALOR MÍNIMO	VALOR MEDIO	VALOR MÁXIMO	DESVIACIÓN ESTANDAR
PIERNA	SIN	HUESO	(n=2)	
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	0	0	+/- 0
Cuenta logarítmica	0	0	0	+/- 0
Enterococos UFC/10g	245	277.5	310	+/- 45.96
Cuenta logarítmica	2,3891	2,4402	2,4913	+/- 0.0722
T°C	-4	-3.5	-3	+/- 0.7071
pH	5.79	5.8950	6.0	+/- 0.0673
	ESPAÑILLA	(n=6)		
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	160.666	1000	+/- 408.248
Cuenta logarítmica	0	0.5	3.000	+/- 1.2247
Enterococos UFC/10g	30	331.66	790	+/- 269.25
Cuenta logarítmica	1.4771	2.3477	2.8976	+/- 0.4952
T°C	-11	-9.1666	-5	+/- 2.1134
pH	5.83	5.9416	6.03	+/- 0.0673
	TOCINO	(n=2)		
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	50	100	+/- 70.7106
Cuenta logarítmica	0	1.000	2.000	+/- 1.4142
Enterococos UFC/10g	400	410	420	+/- 14.14
Cuenta logarítmica	2.6020	2.6126	2.6232	+/- 0.0149
T°C	-10	-9.3	-8.6	+/- 0.8969
pH	5.59	5.74	5.89	+/- 0.212
	CANA	LOMO	(n=2)	
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	0	0	+/- 0
Cuenta logarítmica	0	0	0	+/- 0
Enterococos UFC/10g	110	250	300	+/- 107.98
Cuenta logarítmica	2.0413	2.3162	2.3910	+/- 0.3886
T°C	-12	-9.5	-7	+/- 3.5355
pH	5.92	5.975	6.03	+/- 0.0777
	RECORTE 80/20	(n=4)		
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	175	600	+/- 287.22
Cuenta logarítmica	0	1.1945	2.7781	+/- 1.4154
Enterococos UFC/10g	100	1080	3140	+/- 1408.03
Cuenta logarítmica	2.000	2.7117	3.4969	+/- 0.6402
T°C	-13	-9.25	-7	+/- 2.6299
pH	5.69	5.792	5.96	+/- 0.1209

TABLA 5
 MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL Y DE DISPERSIÓN DE *Staphylococcus aureus* Y ENTEROCOCOS EN LOS CORTES FRESCOS

VARIABLES	VALOR MÍNIMO	VALOR MEDIO	VALOR MÁXIMO	DESVIACION ESTÁNDAR
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	152.14	800	+/- 260.596
Cuenta logarítmica	0	0.9129	2.9030	+/- 1.2806
Enterococos UFC/10g	180	2226.07	9500	+/- 3113.01
Cuenta logarítmica	2.2552	2.9839	3.9777	0.5657
T°C	0	2.9285	10	+/- 2.4950
pH	5.23	5.8457	6.14	+/- 0.247

EGC/1997

TABLA 6
 MEDIDAS DE TENDENCIA CENTRAL Y DE DISPERSIÓN DE *Staphylococcus aureus* Y ENTEROCOCOS DE LOS CORTES CONGELADOS

VARIABLES	VALOR MÍNIMO	VALOR MEDIO	VALOR MÁXIMO	DESVIACION ESTÁNDAR
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC/10g	0	112.5	1000	+/- 250.17
Cuenta logarítmica	0	0.6111	3.000	+/- 1.1178
Enterococos UFC/10g	30	511.56	3140	+/- 733.94
Cuenta logarítmica	1.4771	2.4795	3.4669	+/- 0.4490
T°C	-13	-8.5375	-3	+/- 2.768
pH	5.59	5.877	6.03	+/- 0.129

EGC/1997

TABLA 7

VALORES DE TEMPERATURA, pH Y CONTEO DE *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* Y ENTEROCOCCOS (EN LOGARITMOS) EN CARNE FRESCA.

OBS.	T°C	pH	LOG.	LOG.	LOG.
			<i>Staph. aureus</i>	<i>Salmonella sp.</i>	ENTEROCOCCOS
1	4	6,05	0,0000	0,7071	2,2553
2	1	5,98	0,0000	0,7071	2,7993
3	10	5,23	2,9036	1,2247	3,6232
4	3	5,81	2,4786	0,7071	3,5792
5	1	5,98	2,3032	0,7071	2,7076
6	0	5,84	0,0000	0,7071	2,6902
7	5	5,89	2,8000	0,7071	3,0755
8	3	5,64	0,0000	0,7071	2,9395
9	3	5,50	0,0000	0,7071	3,9777
10	2	6,10	0,0000	0,7071	2,4771
11	3	5,87	0,0000	0,7071	2,6335
12	0	5,98	0,0000	0,7071	2,6812
13	3	6,14	0,0000	0,7071	2,4150
14	3	5,83	2,3032	0,7071	3,9206

EGC/1997

TABLA 8

VALORES DE TEMPERATURA, pH Y CONTEO DE *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.* Y ENTEROCOCCOS (EN LOGARITMOS) EN CARNE CONGELADA

OBS.	T°C	pH	LOG.	LOG.	LOG.
			<i>Staph. aureus</i>	<i>Salmonella sp.</i>	ENTEROCOCCOS
1	-5,0	5,99	0,0000	0,7071	2,6721
2	-12	5,92	0,0000	0,7071	2,5911
3	-9,5	6,03	0,0000	0,7071	1,4771
4	-8,6	5,89	0,0000	0,7071	2,6232
5	-7,0	5,69	2,7789	1,2247	3,4969
6	-8,0	5,72	2,0043	0,7071	2,9031
7	-9,5	5,93	0,0000	0,7071	2,8976
8	-9,0	5,96	0,0000	0,7170	2,4472
9	-10,0	5,90	3,0074	0,7071	2,4624
10	-10,0	5,59	2,0043	0,7071	2,6128
11	-3,0	5,79	0,0000	0,7071	2,4914
12	-10,0	5,84	0,0000	0,7170	2,4314
13	-4,6	6,60	0,0000	0,7071	2,3892
14	-7,0	6,03	0,0000	0,7071	2,0414
15	-13,0	5,80	0,0000	0,7170	2,0000
16	-11,0	5,96	0,0000	0,7071	2,1461

EGC/1997

TABLA 9
VALORES DE r^2 OBTENIDOS DEL CÁLCULO DE LAS CORRELACIONES
ENTRE LAS VARIABLES DEL TRATAMIENTO 1 (CARNE FRESCA)

CORRELACION LINEAL SIMPLE		r^2
Variable independiente	Variable dependiente	
Temperatura	Conteo de <i>Staph. aureus</i>	.28618
pH	Conteo de <i>Staph. aureus</i>	.12943
Temperatura	Presencia de <i>Salmonella sp</i>	.66542
pH	Presencia de <i>Salmonella sp.</i>	.51539
Temperatura	Conteo de enterococos	.15171
pH	Conteo de enterococos	.52423
CORRELACION LINEAL MULTIPLE		r^2
Variables independientes	Variable dependiente	
Temperatura pH	Conteo de <i>Staph. aureus</i>	.28646
Temperatura pH	Presencia de <i>Salmonella sp</i>	.72691
Temperatura pH	Conteo de enterococos	.53534

EGC/1997

TABLA 10
VALORES DE r^2 OBTENIDOS DEL CÁLCULO DE LAS CORRELACIONES
ENTRE LAS VARIABLES DEL TRATAMIENTO 2 (CONGELADA)

CORRELACION LINEAL SIMPLE		r^2
Variable independiente	Variable dependiente	
Temperatura	Conteo de <i>Staph. aureus</i>	.00179
pH	Conteo de <i>Staph. aureus</i>	.38466
Temperatura	Presencia de <i>Salmonella sp</i>	.02188
pH	Presencia de <i>Salmonella sp.</i>	.14958
Temperatura	Conteo de enterococos	.05802
pH	Conteo de enterococos	.28987
CORRELACION LINEAL MULTIPLE		r^2
Variables independientes	Variable dependiente	
Temperatura pH	Conteo de <i>Staph. aureus</i>	.38503
Temperatura pH	Presencia de <i>Salmonella sp</i>	.18461
Temperatura pH	Conteo de enterococos	.37729

EGC/1997

TABLA 11
COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 (FRESCO) Y 2
(CONGELADO) CON RESPECTO A LA VARIABLE CONTEO DE *Staphylococcus*
***aureus* (EN LOGARITMOS) EN LA PIERNA SIN HUESO**

OBS.	Tx.	LOG.
1	1	0.0000
2	1	0.0000
3	1	2.4786
4	1	2.3032
5	1	0.0000
6	1	0.0000
7	1	2.3032
8	2	0.0000
9	2	0.0000

Tx.	N	MEDIA	DESVEST.
1	7	1.01214	0.47776
2	2	0.00000	0.00000

EGC/1997

TABLA 12
COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 (FRESCO) Y 2
(CONGELADO) CON RESPECTO A LA VARIABLE CONTEO DE
***Staphylococcus aureus* (EN LOGARITMOS) EN LA ESPALDILLA**

OBS.	Tx.	LOG.
1	1	0.0000
2	1	0.0000
3	1	0.0000
4	2	0.0000
5	2	0.0000
6	2	0.0000
7	2	3.0004
8	2	0.0000
9	2	0.0000

Tx.	N	MEDIA	DESVEST.
1	3	0.00000	0.00000
2	6	0.50006	1.22490

EGC/1997

TABLA 13
COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 (FRESCO) Y 2
(CONGELADO) CON RESPECTO A LA VARIABLE CONTEO DE
Staphylococcus aureus (EN LOGARITMOS) EN EL TOCINO

OBS.	Tx.	LOG.
1	1	0.0000
2	1	0.0000
3	2	0.0000
4	2	2.0043

Tx.	N	MEDIA	DESVEST.
1	2	0.00000	0.00000
2	2	1.41725	1.00215

EGC/1997

TABLA 14
COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 (FRESCO) Y 2
(CONGELADO) CON RESPECTO A LA VARIABLE PRESENCIA
 DE *Salmonella sp.* (EN LOGARITMOS) EN LA PIERNA SIN HUESO

OBS.	Tx.	LOG.
1	1	0.7071
2	1	0.7071
3	1	0.7071
4	1	0.7071
5	1	0.7071
6	1	0.7071
7	1	0.7071
8	2	0.7071
9	2	0.7071

Tx.	N	MEDIA	DESVEST.
1	7	0.7071	0
2	2	0.7071	0

EGC/1977

TABLA 15
COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 (FRESCO) Y 2
(CONGELADO) CON RESPECTO A LA VARIABLE PRESENCIA
DE *Salmonella sp.* (EN LOGARITMOS) EN LA ESPALDILLA

OBS.	Tx.	LOG.
1	1	0.7071
2	1	0.7071
3	1	0.7071
4	1	0.7071
5	1	0.7071
6	1	0.7071
7	1	0.7071
8	2	0.7071
9	2	0.7071

Tx.	N	MEDIA	DESVEST.
1	3	0.7071	0
2	6	0.7071	0

EGC/1997

TABLA 16
COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 (FRESCO) Y 2
(CONGELADO) CON RESPECTO A LA VARIABLE PRESENCIA
DE *Salmonella sp.* (EN LOGARITMOS) EN EL TOCINO

OBS.	Tx.	LOG.
1	1	0.7071
2	1	0.7071
3	2	0.7071
4	2	0.7071

Tx.	N	MEDIA	DESVEST.
1	2	0.7071	0
2	2	0.7071	0

EGC/1977

TABLA 17
COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 (FRESCO) Y 2
(CONGELADO) CON RESPECTO A LA VARIABLE CONTEO DE
ENTEROCOCOS (EN LOGARITMOS) EN LA PIERNA SIN HUESO

OBS.	Tx.	LOG.
1	1	2.2553
2	1	2.7993
3	1	3.5792
4	1	2.7076
5	1	2.9395
6	1	3.9777
7	1	3.9206
8	2	2.4914
9	2	2.3892

Tx.	N	MEDIA	DESVEST.
1	7	3.1654	0.6613
2	2	2.4403	0.0722

Prob > F	T	Prob T
0.1669	1.4818	0.1820

EGC/1997

TABLA 18
COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 (FRESCO) Y 2
(CONGELADO) CON RESPECTO A LA VARIABLE CONTEO DE
ENTEROCOCOS (EN LOGARITMOS) EN LA ESPALDILLA

OBS.	Tx.	LOG.
1	1	2.6902
2	1	2.4771
3	1	2.6812
4	1	2.6721
5	1	1.4771
6	1	2.8976
7	1	2.4624
8	2	2.4314
9	2	2.1461

Tx.	N	MEDIA	DESVEST.
1	3	2.6161	0.1205
2	6	2.3477	0.4952

Prob > F	T	Prob T
0.1137	0.8962	0.3999

EGC/1997

TABLA 19
COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LOS TRATAMIENTOS 1 (FRESCO) Y 2
(CONGELADO) CON RESPECTO A LA VARIABLE CONTEO DE
ENTEROCOCOS (EN LOGARITMOS) EN EL TOCINO

OBS.	Tx.	LOG.
1	1	2.6335
2	1	2.4150
3	2	2.6232
4	2	2.6128

Tx.	N	MEDIA	DESVEST.
1	2	2.5242	0.1545
2	2	2.6180	0.0073

Prob > F	T	Prob T
0.0606	-0.8572	0.4817

EGC/1997

TABLA 20
HIPÓTESIS DE IGUALDAD DEL CONTEO DE *Staphylococcus aureus*
(EN LOGARITMO) DE LOS CORTES FRESCOS

OBS.	CORTE	LOGARITMO
1	Pierna sin hueso	0.0000
2	Pierna sin hueso	0.0000
3	Pierna sin hueso	2.4786
4	Pierna sin hueso	2.3032
5	Pierna sin hueso	0.0000
6	Pierna sin hueso	0.0000
7	Pierna sin hueso	2.3032
8	Pierna con hueso	2.9036
9	Pierna con hueso	2.8000
10	Espaldilla	0.0000
11	Espaldilla	0.0000
12	Espaldilla	0.0000
13	Tocino	0.0000
14	Tocino	0.0000
Pr > F = 0.0391		

EGC/1997

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

H_1 : no todos los cortes problema son iguales.

Como el valor de $Pr > F = 0.0391$ entonces se rechaza H_0 y se acepta H_1 . Se puede afirmar que significativamente existe por lo menos una diferencia entre los cortes, pero no es posible saber con estos datos cuales son los que difieren.

Con la Prueba de Tukey utilizando $\alpha = 0.05$ y DMT = 4.327, se encontró la diferencia significativa siguiente:

Pierna con hueso \neq espaldilla $X_2 - X_3 = 2.852$ $0.117 \leq \mu_2 - \mu_3 \leq 5.586$

TABLA 21
HIPÓTESIS DE IGUALDAD SOBRE LA PRESENCIA DE *Salmonella sp.*
EN LOS CORTES FRESCOS

OBS.	CORTE	LOGARITMOS
1	Pierna sin hueso	0.7071
2	Pierna sin hueso	0.7071
3	Pierna sin hueso	0.7071
4	Pierna sin hueso	0.7071
5	Pierna sin hueso	0.7071
6	Pierna sin hueso	0.7071
7	Pierna sin hueso	0.7071
8	Pierna con hueso	1.2247
9	Pierna con hueso	0.7071
10	Espaldilla	0.7071
11	Espaldilla	0.7071
12	Espaldilla	0.7071
13	Tocino	0.7071
14	Tocino	0.7071
Pr > F = 0.0908		

EGC/1997

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

H_1 : no todos los cortes problema son iguales.

Como $Pr > F = 0.0908$ se acepta H_0 (se rechaza H_1). Se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los cortes.

TABLA 22
HIPÓTESIS DE IGUALDAD SOBRE EL CONTEO DE ENTEROCOCOS
EN LOS CORTES FRESCOS

OBS.	CORTE	LOGARITMOS
1	Pierna sin hueso	2.2553
2	Pierna sin hueso	2.7993
3	Pierna sin hueso	3.5792
4	Pierna sin hueso	2.7076
5	Pierna sin hueso	2.9395
6	Pierna sin hueso	3.9777
7	Pierna sin hueso	3.9206
8	Pierna con hueso	3.6232
9	Pierna con hueso	3.0755
10	Espaldilla	2.6902
11	Espaldilla	2.4771
12	Espaldilla	2.6812
13	Tocino	2.6335
14	Tocino	2.4150
$P_r > F = 0.2567$		

EGC/1997

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

H_i : no todos los cortes problema son iguales.

Como $P_r > F = 0.2567$ se acepta H_0 (se rechaza H_i). Se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los cortes.

TABLA 23
HIPÓTESIS DE IGUALDAD DEL CONTEO DE *Staphylococcus aureus*
(EN LOGARITMO) DE LOS CORTES CONGELADOS

OBS.	CORTE	LOGARITMO
1	Espaldilla	0.0000
2	Espaldilla	0.0000
3	Espaldilla	2.4786
4	Espaldilla	2.3032
5	Espaldilla	0.0000
6	Espaldilla	0.0000
7	Caña de lomo	2.3032
8	Caña de lomo	2.9036
9	Tocino	2.8000
10	Tocino	0.0000
11	Recorte 80/20	0.0000
12	Recorte 80/20	0.0000
13	Recorte 80/20	0.0000
14	Recorte 80/20	0.0000
15	Pierna s/hueso	0.0000
16	Pierna s/hueso	0.0000
Pr > F = 0.6874		

EGC/1997

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

H_1 : no todos los cortes problema son iguales.

Como $Pr > F = 0.6874$ se acepta H_0 (se rechaza H_1). Se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los cortes.

TABLA 24
HIPÓTESIS DE IGUALDAD SOBRE LA PRESENCIA DE *Salmonella sp.*
EN LOS CORTES CONGELADOS

OBS.	CORTE	LOGARITMOS
1	Espaldilla	0.7071
2	Espaldilla	0.7071
3	Espaldilla	0.7071
4	Espaldilla	0.7071
5	Espaldilla	0.7071
6	Espaldilla	0.7071
7	Caña de lomo	0.7071
8	Caña de lomo	0.7071
9	Tocino	0.7071
10	Tocino	0.7071
11	Recorte 80/20	1.2247
12	Recorte 80/20	0.7071
13	Recorte 80/20	0.7071
14	Recorte 80/20	0.7071
15	Pierna s/hueso	0.7071
16	Pierna s/hueso	0.7071
Pr > F = 0.6155		

EGC/1997

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

H_i : no todos los cortes problema son iguales.

Como $Pr > F = 0.6155$ se acepta H_0 (se rechaza H_i). Se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los cortes.

TABLA 25
HIPÓTESIS DE IGUALDAD SOBRE EL CONTEO DE ENTEROCOCOS
EN LOS CORTES CONGELADOS

OBS.	CORTE	LOGARITMOS
1	Espaldilla	2.6721
2	Espaldilla	1.4771
3	Espaldilla	2.8976
4	Espaldilla	2.4624
5	Espaldilla	2.4314
6	Espaldilla	2.1461
7	Caña de lomo	2.5911
8	Caña de lomo	2.0414
9	Tocino	2.6232
10	Tocino	2.6128
11	Recorte 80/20	3.4969
12	Recorte 80/20	2.9031
13	Recorte 80/20	2.4472
14	Recorte 80/20	2.0000
15	Pierna s/hueso	2.4914
16	Pierna s/hueso	2.3892
Pr > F = 0.7798		

EGC/1997

$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4$

H_1 : no todos los cortes problema son iguales.

Como $Pr > F = 0.7798$ se acepta H_0 (se rechaza H_1). Se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los cortes.

VII. DISCUSIÓN

Para su discusión, los resultados obtenidos se presentan en dos secciones. La primera corresponde al estudio descriptivo de los hallazgos para todas las variables en estudio; la segunda parte corresponde al estudio analítico de los resultados, lo que permite plantear nuevas hipótesis y confirmar o refutar los supuestos iniciales de la investigación.

6.1 Discusión del estudio descriptivo.

6.1.1 Temperatura en el tratamiento 1 (refrigeración).

Los resultados obtenidos del cálculo de la $\mu \pm 1s$ de los valores de temperatura detectados en cada uno de los cortes frescos (Tabla 3), permiten identificar rangos de temperatura entre 1 y 4 °C en la pierna sin hueso, de 0 a 2 °C en la espaldilla y un valor de 3 °C en el tocino. En el caso de la pierna con hueso, se determinó un rango de 4 a 11 °C.

Al ser agrupados los valores de temperatura detectados en los cortes frescos (tabla 5), se puede apreciar que se encuentran muy dispersos, sin embargo, con base en la $\mu \pm 1s$, se pudo calcular un rango entre 0.5 y 5.5 °C.

En relación con lo anterior, es importante tomar en cuenta que la temperatura de refrigeración recomendada para la carne y sus derivados es considerada por algunos especialistas dentro de un rango de -1°C hasta 10 °C (44) mientras que la Secretaría de Salud exige una temperatura máxima de refrigeración de 4 °C (35) y la temperatura máxima exigida por la Comunidad Económica Europea (C.E.E.) para el transporte y almacenamiento de carne fresca dentro de sus fronteras es de 7 °C y para los subproductos (despojos) de 3 °C, para garantizar que la multiplicación de salmonelas no se lleve a cabo (43).

Para poder comparar los resultados encontrados en la presente investigación, se incluyen a continuación algunos valores reportados en la literatura, que se consideran referentes importantes. Así, se encontró que Schmidt (43) realizó estudios con carne picada inoculada con una mezcla de 10 serotipos de salmonelas de las más frecuentemente aisladas a partir de carne, manteniéndola por 8 días a temperaturas constantes; encontró que a una temperatura de 7 °C durante una semana no se apreciaba crecimiento de salmonelas, lo que respalda el criterio vigente en Europa. Cuando elevó la temperatura

1 °C (8 °C) inició un ligero desarrollo 96 horas después; a 9 °C el crecimiento fue perceptible a las 36 hrs. y a 10 °C a las 24 hrs. Lo anterior coincide con lo observado en el presente estudio, ya que en la muestra de carne fresca que resultó positiva a la presencia de *Salmonella* sp. se detectó una temperatura de 10 °C si bien se desconoce el tiempo que la carne permaneció a dicha temperatura.

Sin embargo, pruebas realizadas con diferentes serotipos de salmonelas demostraron que éstas podían multiplicarse desde los 6.6 °C. Por otra parte, se observó que la temperatura mínima de crecimiento de 7 serotipos de salmonelas oscilaba entre 5.5 y 6.8 °C; para precisar estas temperaturas con exactitud se observaba en qué momento se hacía perceptible en agar el desarrollo de las salmonelas. Las temperaturas mínimas de crecimiento reportadas para: *S. heidelberg* es de 5.3 °C; para *S. typhimurium* de 6.2 °C y para *S. derby* de 6.9 °C (18,26).

En cuanto a otros géneros, como estafilococos, los análisis de diversos productos han demostrado que el *Staphylococcus aureus* puede crecer desde los 6.6 °C y aunque suspende su crecimiento por debajo de 5 °C, soporta bien las bajas temperaturas y sobrevive mucho tiempo (26), como sucedió en el presente estudio con muestras cuyas temperaturas detectadas fueron de 1, 3, 3, 5 y 10 °C en las que se encontraron *Staphylococcus aureus*. Cabe comentar que tampoco en este caso se supo el tiempo de almacenamiento durante el que se mantuvieron tales productos a las temperaturas indicadas.

Además, numerosos microorganismos que originan la putrefacción en los alimentos, inhiben su desarrollo solamente a temperaturas inferiores a los 5 °C. (46).

6.1.2 Temperatura en el tratamiento 2 (Carne congelada)

En los cortes congelados (tablas 4 y 6) puede apreciarse que los valores de temperatura detectados (ya sea por corte o grupo de cortes) se encuentran dentro de un rango que va de los -13 a -3 °C.

En la presente investigación fueron detectados *Staphylococcus aureus* en muestras cuyas temperaturas fueron de -7, -8 y -10 °C. Esto coincide con lo señalado en la bibliografía, donde se afirma que los estafilococos se diferencian de otras bacterias no esporuladas por su gran estabilidad a la temperatura, como fue posible detectarlo en un asado de carne de cerdo mantenido entre -17 °C y -22 °C, donde la cifra de

estafilococos sobrevivientes fue de 12.3%; mientras que en otra investigación realizada en un homogenizado de pescado que había sido congelado a -34°C y conservado a -18°C durante 393 días, sobrevivieron un 10% de los gérmenes iniciales (cuya carga original fue de 170,000) al final del periodo (26).

Por otra parte, la mayoría de las salmonelas mueren más fácilmente a temperaturas entre -17 y -1.5°C que a temperaturas por debajo de -18°C . Así por ejemplo, en una carne picada conservada 3 meses a -2°C el contenido de *S. typhimurium* fue 1% de la tasa inicial, en tanto que a iguales tiempos de conservación pero con una temperatura de -20°C el porcentaje de sobrevivencia fue del 50% de la tasa original. (26)

A lo anterior es necesario agregar que la capacidad de sobrevivencia depende también del sustrato, como fue demostrado en un estudio donde un 10% de *S. typhimurium* sobrevivió después de 393 días a -18°C en un homogenizado congelado de pescado; pero en caldo a iguales temperaturas solo sobrevivía un 0.01% (26). En los productos cármicos se ha comprobado que el porcentaje de gérmenes vivos es mayor (26), lo que pudo confirmarse en el presente estudio, ya que fue detectada *Salmonella sp.* en una muestra de carne cuya temperatura era de -7°C .

En términos generales se considera que la reproducción de las bacterias se inhibe a -10°C , la de las levaduras a -12°C y para los hongos son necesarias temperaturas de hasta -18°C . (49)

6.1.3 pH en ambos tratamientos.

Con base en el cálculo de para los valores de pH detectados en la pierna sin hueso, espaldilla y tocino frescos (tabla 3), se determinó un rango de pH 5.5 - 6.05, 5.84 - 6.16 y 5.84 - 6.16 respectivamente. Mientras que en el caso de la pierna con hueso fue de 5.23 - 5.89.

Por otra parte, al aplicar $\mu \pm 1s$ para los valores de la variable pH en pierna sin hueso, espaldilla, tocino, caña de lomo y recorte 80/20 congelados (tabla 4), se determinó un rango de pH 5.79 - 6.00, 5.84 - 6.03, 5.59 - 5.89, 5.92 - 6.03 y 5.69 - 5.96 respectivamente.

Los valores de pH detectados en este estudio coinciden con los reportados en la bibliografía, en los que se establece que la carne de cerdo tras uno o dos días del

sacrificio tiene un pH de 5.7 a 6.2 e incluso, se han registrado valores de 5.3 a 6.9 en carne de animales recién sacrificados.

En la carne de cerdo es de trascendental importancia su pH ya que éste influye en la calidad de la misma. Cuando se efectúa la determinación del pH una hora después del sacrificio y se detecta una caída rápida del mismo (5.8), se dice que la porción de músculo afectada se encuentra en condición PSE (Pálida, Suave y Exhudativa), la cual no favorece el desarrollo microbiano pero disminuye su capacidad de retención de agua, dificulta el curado y favorece la pérdida de nutrientes propios de la carne. Cuando 24 horas después del sacrificio se detectan valores de pH superiores a 6.4, el problema se conoce como condición DFD (Oscura, firme y seca) y se caracteriza por favorecer la retención de agua y el desarrollo bacteriano (48).

Los valores de pH detectados en las muestras de carne fresca que resultaron positivas a la presencia de *Staphylococcus aureus* fueron de 5.23, 5.81, 5.98, 5.89 y 5.83, mientras que en las muestras de carne congelada fueron de 5.69 y 5.72. Lo anterior es necesario tomarlo en cuenta ya que en el caso de *Staphylococcus aureus* se ha demostrado que la producción de enterotoxinas ocurre en un rango de pH que va de 4.00 a 9.83 cuando no hay una concentración significativa de NaCl (como es el caso de la carne refrigerada sin procesar). Cuando al medio se le adiciona un 4% de NaCl, el rango de pH se reduce a 4.4 - 9.43, con 10% de NaCl a 5.45 y no se producen toxinas con una concentración del 12% de sal (18) o cuando el pH es inferior a 5.2.

Por otra parte, *Salmonella sp.* puede desarrollarse en un intervalo de pH que va de 4.0 a 9.0 siendo el óptimo de 6.0 a 7.5, rango en el que se encuentran los valores de las muestras de carne fresca y congelada que resultaron salmonela positivas, cuyos pH fueron de 5.23 y 5.69 respectivamente. En investigaciones realizadas por Idziak y Suvammongkol (1) se observó que *Salmonella typhimurium* disminuía su virulencia en un medio neutro pero aumentaba conforme más ácido se volviera.

6.1.4 *Staphylococcus aureus* en ambos tratamientos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio no coinciden con los reportados en la bibliografía, ya que en el caso de los cortes frescos muestreados se encontró que en el 35.71% de las muestras estaba presente *Staphylococcus aureus* y en los cortes congelados el 25% resultaron positivos; mientras que en datos reportados por

investigadores norteamericanos se aislaron estafilococos coagulasa positivos en los siguientes productos cárnicos y con la tasa que se indica; en el 100% de muestras de carne de pollo, el 71% en hígado de cerdo, el 42% en carne de vacuno, el 40% en jamón y el 39% en salchichas (26), y en otro estudio se aisló *S. aureus* del 27.4% de muestras procedentes de carne fresca. Sin embargo, es importante considerar que las diferencias anteriormente descritas pueden presentarse, ya que diversos estudios han demostrado que durante el manejo de los productos cárnicos, los estafilococos denominados "de origen" son reemplazados por estafilococos de origen humano durante el proceso de producción y en consecuencia la frecuencia de presentación de esta bacteria puede variar significativamente (16,18).

En general, los estafilococos pueden estar presentes en un número reducido en todos los productos alimenticios de origen animal o en aquellos que son manipulados directamente por personas. Se ha demostrado que los estafilococos no crecen o se dificulta su desarrollo en carne cruda y no estéril ya que la flora bacteriana presente en la misma disminuye significativamente su viabilidad, pero cuando las condiciones higiénicas de obtención de la carne no fueron buenas, los estafilococos crecieron produciendo toxinas en carnes crudas (26), demostrando Gilbert y col. (1972) (1) que se requiere de un elevado número (generalmente mayor de 500,000 por gramo) de estafilococos para producir la cantidad suficiente de enterotoxina (1 microgramo) capaz de originar síntomas en el consumidor, por ello se han establecido límites; así, el límite máximo de *S. aureus* considerado para carnes rojas frescas y congeladas en México es de 100 UFC/gr. (37).

Los resultados obtenidos tanto en la carne fresca como en la congelada coinciden con lo anteriormente señalado, considerando que los conteos de *S. aureus* detectados no sobrepasaron el límite máximo permitido por la normatividad correspondiente.

6.1.5 *Salmonella sp.* en ambos tratamientos.

El número real de serotipos de salmonelas que pueden producir enfermedad en el hombre no es conocido, pero se han aislado numerosas cepas en procesos gastroentéricos y la lista sigue creciendo, por lo cual su presencia en los alimentos resulta inaceptable (1).

La retirada del comercio de las partidas de carne salmonela positiva provocaría pérdidas importantes en la ganadería e industria cárnica. No obstante, debido a la contaminación cruzada que se presenta durante la preparación de alimentos, las carnes frescas son el origen de la contaminación por salmonelas de los alimentos no cocinados o preparados; por esta razón el ICMSF considera que las salmonelas presentes en las carnes frescas son un problema sanitario que exige mejoras importantes aplicadas en forma gradual al sector de producción animal, rastros e industria cárnica.

Como puede apreciarse en las tablas 1 y 2, se detectó la presencia de salmonelas en una muestra de cada grupo de tratamiento, representando esto el 7.14 % en los cortes frescos y el 6.25 % en los cortes congelados.

Los hallazgos anteriores no coinciden con los resultados obtenidos por el Departamento de Veterinaria, Patología y Salud Pública de la Universidad de Queensland, Australia (1991) quienes encontraron que *Salmonella sp.* estaba presente en el 34 % de las canales de cerdos muestreadas, aislándose 13 serotipos diferentes de salmonelas, de los cuales *S. anatum* y *S. typhimurium* fueron los más numerosos. (5)

Tampoco coinciden con los resultados obtenidos por Salgado (32) en la misma planta donde se llevó a cabo la presente investigación, quien encontró que la frecuencia de presentación de salmonelas en productos crudos fue del 2.40 % en chorizo fresco, 2.06 % en chorizo madurado y 5.09 % en chorizo madurado con tripa natural, lo cual podría explicarse ya que no se trabajaron materiales iguales, pues en este estudio se trabajó con materia prima, en tanto que Salgado trabajó con producto después de proceso, lo que podría significar la contaminación del producto por parte del personal.

6.1.6 Enterococos en ambos tratamientos.

En las 30 muestras de carne de cerdo tanto fresca como congelada (tablas 1 y 2) que fueron procesadas en el laboratorio se aislaron estreptococos fecales, lo que no coincide con los resultados reportados en investigaciones llevadas a cabo en la Universidad de Zagazig (Egipto) en 1981, donde se aislaron estreptococos fecales en canales de pollo, detectándose en el 2.7, 81.7, 92.8 y 66.5 de las muestras durante el invierno, primavera, verano y otoño respectivamente. Es importante tomar en cuenta que la presente investigación solamente abarcó un trimestre del año (principalmente en invierno), mientras que en Egipto duró 12 meses. Además de la diferencia de especie, es probable

que las diferencias climatológicas presentes en una y otra región y a lo largo del año influyen sobre el comportamiento microbiano en la carne.

Los alimentos pueden contener enterococos procedentes de una contaminación fecal directa, pero debido a que se encuentran tan ampliamente distribuidos en el medio ambiente su significado como indicadores de contaminación fecal está seriamente cuestionado (Mundt, 1963; Martín y Mundt, 1972); además, su presencia guarda escasa relación con el peligro de que simultáneamente existan microorganismos potencialmente patógenos, tales como *Salmonella* y *Shigella*. (16)

Sin embargo, estos microorganismos pueden tener un papel significativo como indicadores de prácticas de limpieza y sanitización deficientes en las industrias de los alimentos (14) ya que son muy resistentes a las condiciones adversas tales como congelación, desecación, tratamiento térmico, detergentes y sanitizantes. (25)

Considerando que no se han definido límites microbiológicos recomendados para los enterococos, no fue posible comparar los resultados obtenidos (tablas 3 y 4). Para interpretar el significado de los niveles concretos de estos microorganismos en un determinado alimento se precisa contar con la adecuada experiencia. Niven (1963), Lewis y Angelotti (1964), Hartman y col. (1965) y E. M Foster (1973) indican que conteos pequeños de estreptococos fecales en alimentos carecen de significado, excepto cuando se trata de muestras de productos procesados con tratamientos bactericidas muy rigurosos. (16)

Algunos autores (W. E. Cary y col. 1938; Buchbinder y col., 1948; Dack, 1943, 1949; Dewberry, 1943; Fabian, 1947; A. C. Evans y Chin, 1947; Pantaléon y Rosset, 1955; Fujiwara y col., 1956; Linde, 1959; Browne y col., 1962; Seidel y Muschter, 1967) han atribuido casos y brotes de intoxicación alimentaria por alimentos muy contaminados con enterococos; sin embargo, la mayoría de los investigadores no reconocen la capacidad de los estreptococos fecales de producir intoxicaciones. (16)

Dolman, 1943; Topley, 1947; Kosikowsky y Dahlberg, 1948; Dack y col., 1949; Kosikowsky, 1951; Niven, 1955; Linde, 1959; Fisher, 1958; Deibel y Silliker, 1963; y otros, han fracasado en el intento de producir en forma experimental enfermedad en el hombre. Hartman y col., en 1959 coinciden en que es necesaria una asociación sinérgica con algún otro microorganismo para producir enfermedad. (23)

6.2 Discusión del estudio analítico.

Mediante el empleo de correlaciones lineales simples se analizó en el presente estudio la relación existente entre las variables fisicoquímicas y las variables microbiológicas estudiadas.

Es importante señalar que al ser consultada la bibliografía especializada para poder comparar los resultados obtenidos, no se encontraron trabajos similares, sin embargo, se tomó de referencia la información generada en un trabajo de tesis (31) realizado en la misma planta donde se desarrolló el presente estudio.

a) Correlación lineal simple entre la temperatura y cada una de las variables microbiológicas para ambos tratamientos

Como puede apreciarse en las tablas 9 y 10, los valores obtenidos del cálculo de r^2 nos indican que no existió una relación significativa entre la temperatura y los conteos de *Staphylococcus aureus* ($r^2 = 28.01\%$), enterococos fécales ($r^2 = 15.17\%$) y la presencia de *Salmonella sp.* (66.54%) en carne de cerdo fresca; mientras que en la carne congelada el comportamiento fue similar, reportándose valores de $r^2 = 00.17\%$ (Temperatura-Conteo de *Staphylococcus aureus*), $r^2 = 14.95\%$ (Temperatura-Presencia de *Salmonella sp.*) y $r^2 = 5.80\%$ (Temperatura-Conteo de enterococos). Estos hallazgos coinciden con el resultados reportados por Rivera (1996) (31), quien encontró que no existía una relación significativa entre la temperatura y el conteo de mesófilos en carne de cerdo fresca ($r^2 = 61\%$) y congelada ($r^2 = 66\%$).

b) Correlación lineal simple entre pH y cada una de las variables microbiológicas para ambos tratamientos.

Rivera encontró una relación altamente significativa entre el pH y los conteos de mesófilos tanto para los cortes frescos ($r^2 = 91\%$) como para los congelados ($r^2 = 98\%$) (31); sin embargo, lo anterior no coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio, ya que en éste no se encontró una relación significativa entre los valores de pH y las variables microbiológicas en estudio (tabla 10), tanto en los cortes frescos como en los congelados. Ello podría deberse a que en el conteo de

mesófilos se incluyen *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.*, pero también una gran variedad de microorganismos.

Con la correlación lineal múltiple se analizó la relación existente entre las variables temperatura y pH con cada una de las variables microbiológicas en estudio.

a) Correlación lineal múltiple entre la temperatura y pH con cada una de las variables microbiológicas para ambos tratamientos

La relación existente entre las variables temperatura y pH con los conteos de *Staphylococcus aureus* y enterococos en ambos tratamientos fue poco significativa, al igual que la presencia de *Salmonella sp.* en cortes congelados (ver tablas 9 y 10), siendo la única excepción el comportamiento detectado en los cortes frescos con respecto a la relación entre temperatura y pH con la presencia de *Salmonella sp.*, la cual resultó altamente significativa, ya que se obtuvo un valor de $r^2 = 72.69$. Este último hallazgo es el único que coincide con lo encontrado por Rivera, quien detectó una relación altamente significativa entre las variables temperatura y pH con el conteo de mesófilos en carne fresca del 99%. (31)

Al efectuar la comparación de medias (tablas 11-19) se encontró que las variables conteo de enterococos y la presencia de *Salmonella sp.* se comportaron de la misma manera en la pierna sin hueso, espaldilla y tocino tanto en los cortes frescos como en los congelados, lo que coincide con lo señalado por Rivera, quien encontró que los conteos de mesófilos aerobios se comportaban de igual manera en carne fresca como congelada.(31) La excepción en la presente investigación fue en los conteos de *Staphylococcus aureus*, que se comportaron de diferente manera en uno y otro tratamiento en los diferentes cortes.

Finalmente se aplicó un diseño completamente al azar desbalanceado con la finalidad de demostrar la hipótesis de igualdad de las variables microbiológicas en los cortes estudiados (tablas 20 a 25), detectándose que en los cortes frescos las variables conteo de enterococos y presencia de salmonela se comportan en forma semejante sin importar el tipo de corte; pero en el caso de la variable conteo de *Staphylococcus aureus* si existieron diferencias entre los cortes. Mediante el empleo de la prueba de Tukey, se pudo establecer que la pierna con hueso se comporta de manera diferente a la espaldilla con respecto a esta variable. Lo anterior podría explicarse con los estudios realizados

por Meermeeter en 1991 (22), donde se demostró que la media canal izquierda de los cerdos se encontraba más contaminada que el lado derecho debido a que el proceso mecánico de flameado y pulido en el lado derecho es más intenso. Durante la realización de este estudio se eligió la espaldilla como punto representativo ya que sobre ella influyen todos los episodios de la matanza y las posibles fallas en la técnica se hacen muy evidentes.

Al aplicarse la misma prueba estadística en los cortes congelados, no se encontraron diferencias entre los cortes con respecto a las variables conteo de *Staphylococcus aureus* y enterococos, y presencia de *Salmonella sp.*

VIII. CONCLUSIONES

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

1. La mayoría de los cortes pertenecientes al tratamiento I (Cortes frescos) cumplen con la temperatura de refrigeración recomendada (0 a 5 °C) y por ello existe la garantía de que la velocidad con la cual se multiplican los microorganismos mesófilos y termófilos disminuye. La excepción fue la pierna sin hueso, donde se registraron temperaturas en las cuales es factible el elevado desarrollo microbiano y la producción de enterotoxinas (*Staphylococcus aureus* produce toxinas a 10 °C).
2. En ninguno de los cortes congelados se detectó la temperatura mínima de conservación al momento de la recepción para estos productos, estipulada en -18 °, para así garantizar que los procesos de autólisis de origen enzimático y el desarrollo microbiano en la carne se detenga significativamente. La consecuencia de ello es que la calidad tanto sanitaria como comercial de la carne y sus derivados se puede demeritar significativamente.
3. El pH detectado tanto en los cortes frescos como en los congelados favorecen una adecuada curación de la carne (con excepción de la pierna sin hueso cuyo pH fue de 5.23) e inhiben el desarrollo de numerosos microorganismos responsables de la putrefacción. Sin embargo, microorganismos potencialmente patógenos como los estafilococos y las salmonelas son capaces de desarrollarse en éstos valores de pH.
4. Con base en los conteos de *Staphylococcus aureus* registrados en este estudio se puede considerar que las muestras estudiadas provenían de carne de excelente calidad en cuanto a esta variable, ya que los valores obtenidos se encuentran por debajo de los límites máximos señalados en la normatividad mexicana; además de que se requiere un número considerablemente mayor de UFC para producir la cantidad necesaria de enterotoxinas para poder provocar algún problema de intoxicación alimentaria.

5. Aunque el número de muestras que resultaron salmonela positivas no fue elevado, la presencia de salmonelas en la materia prima cárnica representa un riesgo para la salud del público consumidor, sobre todo cuando ésta es utilizada para la elaboración de productos crudos tales como el chorizo, en los cuales no existe un tratamiento en el proceso que garantice al 100% la destrucción de estas bacterias.
6. No fue posible obtener conclusiones en cuanto al significado de los conteos de enterococos detectados ya que no existen límites máximos establecidos en la literatura especializada o en normas tanto nacionales como internacionales. Sin embargo, sería importante continuar con más investigaciones para poder determinar la importancia de estos microorganismos como indicadores de limpieza y sanitización de equipo e instalaciones.
7. Para esta investigación el medio ambiente ejerció poca influencia sobre los conteos de *Staphylococcus aureus* y enterococos; pero es importante destacar que en la carne fresca, la interacción de la temperatura y pH (77.29%), influyeron significativamente sobre la presencia de *Salmonella sp.*
8. Considerando que la detección de conteos elevados *Staphylococcus aureus* en los productos cárnicos son indicio de que se efectuó un manejo deficiente de los alimentos durante su elaboración, es posible suponer que las diferencias encontradas en los conteos de *Staphylococcus aureus* entre los cortes muestreados pueden ser consecuencia del diferente grado de manipulación que se realiza para su obtención.
9. Considerando la información recopilada en la bibliografía especializada y con base en los resultados obtenidos en el estudio llevado a cabo por Rivera, y en la presente investigación, se determinaron los siguientes límites críticos para estas dos variables:
Temperatura en carne refrigerada: Rango: -1 a 5 ° C
Temperatura en carne congelada: - 18 ° C
pH tanto en carne fresca y congelada: Rango: 5.3 - 6.2

IX. RECOMENDACIONES

Se propone implementar un procedimiento efectivo de verificación y registro rutinario de la temperatura y el pH como pruebas rápidas al momento de la recepción de la materia prima que va a ser procesada y de las condiciones en las cuales es transportada y manejada.

Con base en la información contenida en los registros, se recomienda elaborar un documento que contenga un concentrado de los hallazgos y en caso de ser necesario incluir las posibles causas que influyeron negativamente en las características del producto recibido y las posibles soluciones al o a los problemas identificados, para hacérselo llegar a los proveedores y así propiciar su participación activa en la implementación de los cambios necesarios. Lo anterior resultará en beneficio tanto de la planta procesadora de alimentos como del mismo proveedor.

El monitoreo de la temperatura y el pH al momento de la recepción de la materia prima cárnica es un procedimiento confiable como indicador indirecto de la calidad microbiológica de la carne; sin embargo, es importante tomar en cuenta que no es 100% efectivo y por lo tanto es recomendable continuar con los muestreos para análisis microbiológico en forma periódica para así tener una mayor garantía sobre la inocuidad de la carne procesada.

Se recomienda monitorear la temperatura y el pH en cada una de las etapas de los procesos de elaboración de los productos para constatar que se encuentren dentro de los límites que impidan la proliferación de microorganismos potencialmente patógenos tales como *Staphylococcus aureus* y *Salmonella sp.* y en caso de no ser así, llevar a cabo las acciones correctivas pertinentes. .

La información obtenida en el presente trabajo puede contribuir en la implementación del sistema HACCP en la planta procesadora de alimentos, ya que se han establecido límites críticos en cuanto a la temperatura y el pH al momento de la recepción de la materia prima cárnica. Se recomienda continuar con el establecimiento de límites críticos para otras etapas de los procesos y controlar el (los) punto (s) crítico (s) en la cadena de producción de los alimentos producidos en dicha planta.

X. ANEXO

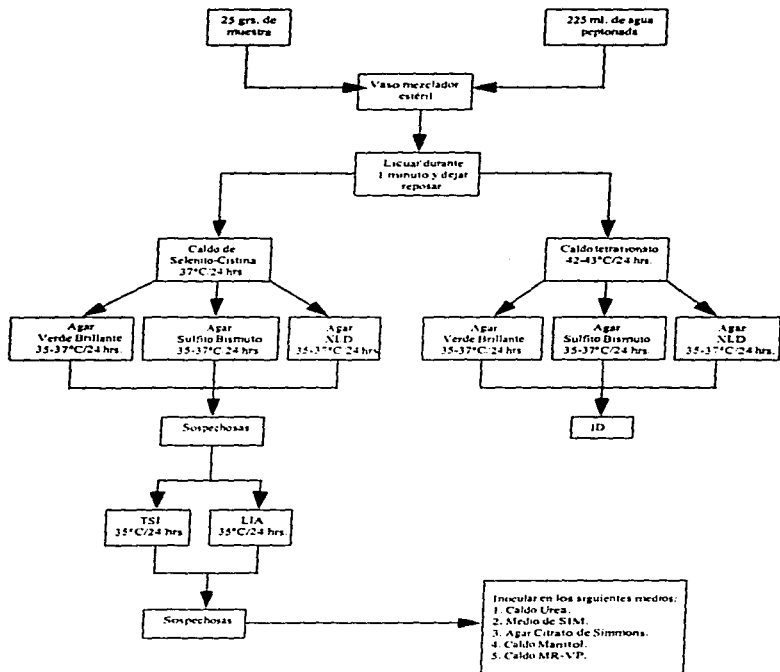


FIGURA 1. Identificación de *Salmonella sp.* en productos cárnicos.

FUENTE: ICMSF y NOM-114-SSA1-1994.

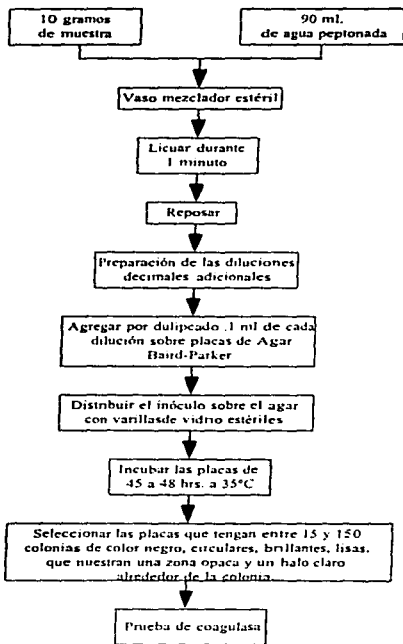


FIGURA 2. Identificación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.

FUENTE: NOM-115-SSA1-1994.

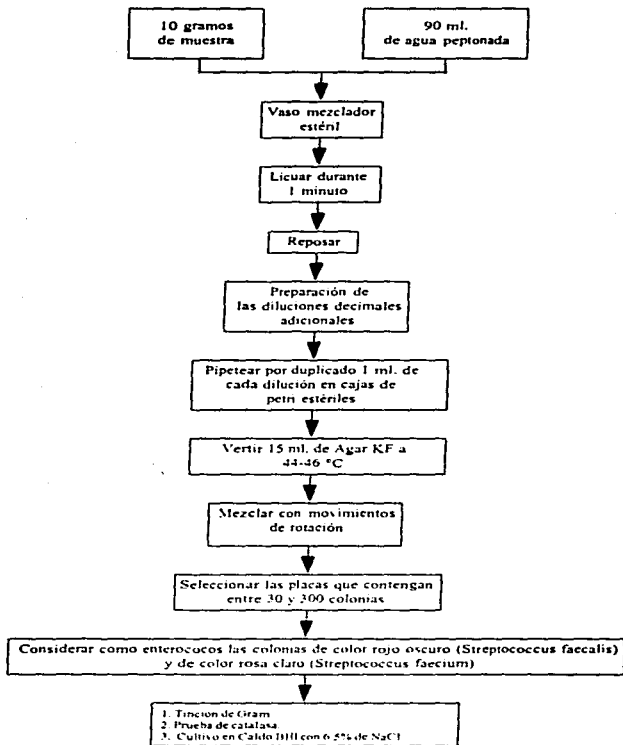


FIGURA 3. Identificación de enterococos en alimentos.

FUENTE: ICMSF

XI. BIBLIOGRAFIA

1. BANWART, GEORGE J. Basic Food Microbiology. Van Nostrand Reinhold. England, 1989.
2. BAUMGART, J. Microbiological Investigation of Foodstuffs. Segunda edición. Hamburg, 1990.
3. BRANDLY. Higiene de la Carne. Compañía Editorial Continental. España, 1971.
4. BOARD, R. G. Introducción a la microbiología moderna de los alimentos. Editorial Acribia. España, 1988.
5. BENSIK, J. C. The isolation of *Salmonella sp.* from kangaroos and pigs processed for human consumption. Australian Veterinary Journal. Vol. 3 No. 68. 1991.
6. CARTER, G. R. Bacteriología y Micología Veterinarias. Aspectos esenciales. Editorial El Manual Moderno. México, 1985.
7. CUNNINGHAM, F. E. Food Science and Technology. U. S. A. 1993.
8. DANIELS, W. Bioestadística. Edit. Limusa. México, D. F. 1993.
9. FRAZIER, W. C. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia. España, 1985.
10. FORREST, J. Fundamentos Ciencia de la Carne. Editorial Acribia. España, 1979.
11. GRANT, W. D. Microbiología ambiental. Editorial Acribia. España, 1989.
12. GILL, C. O. A Review Intrinsic Bacteria in Meat. Journal of Applied Bacteriology. Vol 47. Nueva Zelanda, 1979.
13. GILL, C. O. Meat spoilage and evaluation of the potencial storage life of fresh meat. Journal of Food Protection. Vol. 46. No. 5. Nueva Zelanda, 1983.
14. GUYETTE, JAMES E. Technical Knockout. Meat Marketing and Technology. Vol 2. No. 5. 1995.
15. HERNÁNDEZ, R. Metodología de la Investigación. Editorial McGrawHill. México, 1994.

16. ICMSF. Microorganismos de los alimentos. Técnicas de Análisis Microbiológico VOL. I. Segunda edición. Editorial Acribia. España, 1980.
17. ICMSF. Ecología microbiana de los alimentos. VOL. 2 Editorial Acribia. España, 1981.
18. JAY, JAMES. Modern Food Microbiology. Cuarta edición. Editorial Van Nostrand Reinhold. Nueva York, 1992.
19. KRAMLICH, W. E. Processed Meats. The Avi Publishing Company, Inc. USA, 1982.
20. KRIEGER. Practical Food Microbiology and Technology. Tercera edición. Publishing Company. USA, 1992.
21. LÓPEZ P. J.; PANTOJA C. D.; Memorias del Primer Curso-Taller "Análisis de Riesgos en Alimentos" FES-C 1995.
22. MEERMETER, DIETER. Cifras de gérmenes en las canales de los animales de abasto. Die Fleischerei. No. 7. 1991.
23. MAC FADDIN, J. F. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Interamericana. México, D. F. 1990.
24. MOLINS, RICARDO A. Lácteos y Cárnicos Mexicanos. Vol. 8. No. 4. USA, 1993.
25. MOUSA, M. M. Microbial quality of some meat-products. Veterinary Medical Journal. Vol 3. No. 41. 1993.
26. NOSKAWA, G. L. Microbiología de las carnes conservadas por el frío. Editorial Acribia. España, 1975.
27. OOSTEROM, J. Further research into the possibility of salmonella-free fattening and slaughter of pigs. Journal of hygiene. Vol 1. No. 91. 1983.
28. PASCUAL, MA. DEL ROSARIO. Microbiología alimentaria. Editorial Díaz de Santos. España, 1992.
29. PEARSON, A. M. Meat and Health. Volume 6. Elsevier Applied Science. USA, 1990.

30. PEARSON, A. M. Meat and Poultry Microbiology. Vol. 2. Advances in Meat Research. USA, 1986.
31. RIVERA, Q. J. Determinación de los límites críticos de cargas bacterianas (cuenta estándar de mesófilos) en carne de cerdo fresca y congelada. Tesis. México, 1996.
32. SALGADO, G. J. *Salmonella sp.* en tres tipos de chorizos, como peligro dentro de un sistema de análisis de riesgos e identificación de puntos críticos de control en una empacadora de la ciudad de México. Tesis. México, 1996.
33. SECRETARIA DE SALUD. Aplicación del Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos en la Elaboración de Productos Cárnicos. México, 1994.
34. SECRETARIA DE SALUD. Manual de aplicación del análisis de riesgos, identificación y control de puntos críticos. México, 1993.
35. SECRETARIA DE SALUD. Manual de buenas prácticas de higiene y manufactura. México, 1993.
36. SECRETARIA DE SALUD. Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA-1994. Método para la determinación de Salmonela en alimentos. México, 1994.
37. SECRETARIA DE SALUD. Norma Oficial Mexicana. NOM-115-SSA-1994. Metodología para la determinación de *Staphylococcus aureus* en alimentos.
38. SECRETARIA DE SALUD. Norma Oficial Mexicana. NOM-110-SSA-1994. Preparación y dilución de alimentos para su análisis microbiológico. México, 1994.
39. SECRETARIA DE SALUD. Norma Oficial Mexicana. NOM-109-SSA1-1994. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. México, 1994.
40. SECRETARIA DE SALUD. Reglamento de la Ley General de Salud en materia de control sanitario de actividades, establecimientos, productos y servicios. Décima edición. Editorial Porrúa. México, 1993.
41. THE FOOD PROCESSOR INSTITUTE. HACCP Establishing Hazard Analysis Critical Control Point Programs. (& Annex: A Workshop Manual). Edited by Kenneth E. Stevenson Ph. D., Washintong, D. C., 1993

42. TOMPKIN, R. B. The Use of HACCP in the Production of Meat and Poultry Products. *Journal of Food Protection*. Vol 53, No. 9, 1990.
43. TROEGER, K. Die Fleischerei. Calidad e Higiene de la Carne. No. 8, 1985.
44. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Generic HACCP. Model for Cooked Sausage. HACCP-2. 1994.
45. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Improving the Safety of Meat and Poultry. Backgrounder 1995.
46. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. HACCP Roundtable. FSIS HACCP. 1994.
47. VELAZCO, J. Métodos para Mejorar la Calidad Microbiológica de las Canales. *CarneTec*. 1977.
48. WARNER, R. Determinando la Calidad de la Carne de Cerdo. *Nuestro Acontecer Porcino*. Vol II. No. 6. México, 1994.
49. WIRTH, F., LEISTNER, L. Valores Normativos de la Tecnología Cármica. Editorial Acribia. España, 1981.