



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**



**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE UN BACTERIÓFAGO EN  
EL PRECHILLER SOBRE EL CONTEO DE MESÓFILOS Y  
COLIFORMES EN CANALES DE POLLO DE ENGORDA**

**T E S I S**

Para obtener el título de

**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A**

**GRECIA MADELEINE CARDOSO LUNA**

**ASESORAS**

**Dra. Cecilia Rosario Cortés**

**Dra. María del Pilar Castañeda Serrano**

**CIUDAD DE MÉXICO, 2022**



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).

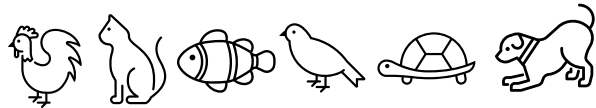
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

## DEDICATORIA

Todo este esfuerzo va dedicado a mis personas favoritas en el mundo, para mi mamá y mi hermano, por ser quienes guían mi vida, sin ustedes y sus consejos, cariño y amor no habría llegado hasta donde estoy, además de saber que mis logros también son los suyos.

Hasta el cielo, para mis abuelitos Angelina y Damián, por siempre haber creído en mí.

Y con todo mi corazón para Kiko, Cuca, Chiquitos, Kikiri, Alita, Plumita, Hashi, Zuky, Blacky, Odie, Scrapy, Toby, Slinky, Puppy, Luna, Taz, Toulouse, Mía, Güero, Coffee, Tom, Rayas, Negrita, Mascaritas, Botitas, Blanco, Panterita, Misha, Nube, Jerry, Katty, Kitty, Koko, Gruñón, Blue, Valentín y Bebé, por quienes ahora soy Médica Veterinaria Zootecnista.



## **AGRADECIMIENTOS**

Le agradezco a Dios por haberme guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y felicidad.

Gracias a mis motores de vida, a mi mamá Angélica Luna y a mi hermano Hanzel Carlos, por no dejarme caer nunca.

Mi agradecimiento eterno a la Universidad Nacional Autónoma de México, a mi honorable Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, al Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves y al Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola por las oportunidades, lecciones y aprendizajes que me han brindado, son incomparables. Gracias a la empresa CTCBIO por todo el apoyo.

Gracias a los mejores doctores con los que tuve la oportunidad de coincidir durante mi carrera profesional, porque no solo fueron mis maestros académicos sino también mis maestros de vida, gracias Dra. Cecilia Rosario, Dra. Pilar Castañeda, Dra. Magdalena Escorcía, Dr. Rubén Merino, Dr. Nestor Ledesma, Dr. Jorge Iriarte, Dr. Félix Sánchez, Dr. Abel González, Dra. Tere Casaubon y Dra. Tere Olivares por dejar una huella en mi corazón.

Gracias por todas sus atenciones, consejos y enseñanzas para la realización de esta tesis Dr. Enrique Delgado, Dra. Analía Balderas, Dra. Antonieta Castello y Dr. Benjamín Fuente.

Gracias a mis mejores amigos, gracias por el apoyo incondicional Ximena Ramos, Karen Sánchez, Carolina Méndez, Diana Fernández, Alma Fernández, Jonathan Sánchez, Verónica Sánchez, Eduardo Díaz, Martín Quezada, Cinthia Rico, Christofer Robles y Pablo Sáenz.

Gracias a mis compañeras de tesis que se volvieron mis amigas, Jazmín García y Monserrat Martínez, así como a David Ramos, Dra. Rosa Vite y María Castro por todo el apoyo que me brindaron.

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>2</b>
Justificación .....	6
Objetivo general .....	6
Objetivos particulares .....	6
Hipótesis.....	7
<b>2. MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>7</b>
Obtención de las canales de pollo.....	7
Obtención del bacteriófago.....	10
Preparación del inóculo. ....	10
Inoculación de las canales.....	13
Prechiller y lavado de las canales. ....	13
Muestreo del agua del prechiller.....	14
Monitoreo de temperatura del agua del prechiller. ....	14
Conteo de mesófilos aerobios y coliformes totales. ....	14
Análisis de datos.....	15
<b>3. RESULTADOS</b> .....	<b>17</b>
Resultados de lavado de canales.....	17
Mesófilos.....	17
Coliformes.....	19
Resultados de muestras de agua.....	20
Mesófilos.....	20
Coliformes.....	24
Monitoreo de temperatura del agua del prechiller. ....	26
<b>4. DISCUSIÓN</b> .....	<b>27</b>
<b>5. CONCLUSIONES</b> .....	<b>29</b>
<b>6. REFERENCIAS</b> .....	<b>30</b>

## RESUMEN

CARDOSO LUNA GRECIA MADELEINE. Efecto de la administración de un bacteriófago en el prechiller sobre el conteo de mesófilos y coliformes en canales de pollo de engorda. (Bajo la dirección de: Dra. Cecilia Rosario Cortés y Dra. María del Pilar Castañeda Serrano).

Los productos avícolas pueden contaminarse, lo cual representa un riesgo para la salud, la vida de anaquel y la calidad del producto, debido a esto, el objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación de un bacteriófago en el prechiller para el conteo en placa de mesófilos aerobios y coliformes totales en las canales de pollo como indicador de contaminación microbiológica. Para ello, se utilizaron 45 canales de pollo Ross 308 divididas de manera aleatoria en tres grupos: 5 canales de grupo negativo, 5 de grupo positivo inoculado con *Salmonella* Enteritidis y 5 de grupo experimental inoculado con *Salmonella* Enteritidis y con uso del bacteriófago en el prechiller, el cual en su formulación va acompañado por una cepa de *Bacillus subtilis*, se realizaron tres repeticiones por cada grupo. Las canales fueron sumergidas en el agua del prechiller durante 15 minutos, se llevó a cabo el lavado de las canales a partir del cual se hicieron diluciones décuples seriadas, las cuales fueron sembradas en agar métodos estándar para conteo de mesófilos y en agar rojo violeta bilis para coliformes, dejando en incubación de 24 a 48 horas a 37 °C. En relación con el conteo de mesófilos, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los grupos a las 24 horas de medición, el grupo negativo con 5.49 UFC/ml log<sub>10</sub>, seguido por el grupo positivo con 6.03 UFC/ml log<sub>10</sub> y grupo experimental con 7.11 UFC/ml log<sub>10</sub>. A las 48 horas se presentaron resultados semejantes. Respecto al conteo de coliformes totales no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre las lecturas a las 24 y 48 horas. La presencia de *Bacillus subtilis* en el producto genera un conteo de mesófilos alto, por lo que su uso en planta de procesamiento no es recomendable, ya que puede modificar los conteos y con ello afectar la determinación de la vida de anaquel, por lo que se sugiere hacer una reformulación del producto eliminando al *Bacillus subtilis*.

## 1. INTRODUCCIÓN

El sector avícola es posiblemente el de mayor crecimiento y el más flexible de la ganadería, en gran medida se debe a que la carne de pollo es considerada uno de los alimentos más saludables para el consumo humano, por su alto aporte proteico (22%) y bajo contenido de lípidos (4 a 5%). Sumado a ello, un precio relativamente más bajo frente a las demás carnes, hacen del pollo la segunda carne más preferida luego del cerdo a nivel mundial.<sup>1, 2</sup> Actualmente, nuestro país es el sexto lugar en producción de pollo, con 3 550 000 toneladas detrás de países como: Estados Unidos, Brasil, China, India y Rusia. La producción pecuaria en México representa el 63.3% donde 6 de cada 10 kg producidos son alimentos avícolas como pollo, huevo y pavo.<sup>1</sup> Los productos avícolas son de gran importancia para la alimentación en nuestro país, puesto que son alimentos accesibles, y poseen un alto contenido nutricional. Las entidades del país con la mayor producción de carne de pollo en 2020 fueron: Veracruz, Aguascalientes y Querétaro.<sup>1</sup> La comercialización de pollo en México se lleva a cabo de la siguiente manera: vivo 37 %, rosticero 37 %, mercado público 9 %, supermercado 3 %, piezas 11 % y productos de valor agregado 3 %.<sup>1</sup>

La carne y los productos avícolas son fácilmente contaminados por microorganismos, que pueden tener consecuencias importantes en el deterioro y la calidad de éstos.<sup>3</sup> Dicha contaminación es indeseable pero inevitable, y depende de la calidad microbiológica de las canales utilizadas como materia prima. Las prácticas de higiene durante la manipulación, el tiempo y la temperatura de almacenamiento afectan de forma importante al crecimiento microbiano.<sup>4</sup> Existen diversas definiciones sobre lo que implica la vida de anaquel, una de las más aceptadas la define como un determinado tiempo bajo condiciones de almacenamiento conocidas, posterior a la manufactura y envasado de los alimentos. Durante este tiempo, el producto deberá conservar sus características de calidad sensorial, química, física, funcional y microbiológica, cumpliendo con todas las declaraciones de contenido nutrimental que aparecen en su etiqueta, cuando se almacena en condiciones adecuadas.<sup>5</sup>

El enfriamiento es crucial para mantener la calidad microbiológica final de una canal, ya que puede reducir el crecimiento microbiano y maximizar tanto la seguridad del producto como la vida de anaquel.<sup>6</sup> Algunos investigadores observaron que la carga microbiana total en canales de pollo puede ser reducida en los sistemas de enfriamiento por inmersión, debido al efecto de lavado de contra corriente del flujo de agua fría por agitación y la cloración. Asimismo, la cadena fría se define como la exposición continua a una temperatura dada, en este caso, tiene el objetivo de reducir el crecimiento bacteriano con la finalidad de maximizar la vida de anaquel de las canales. Por lo tanto, la carga microbiana total dada por factores de manejo de canales en el rastro y la posibilidad de contaminación de éstas, así como, el manejo de cadena de frío determina la vida de anaquel.<sup>6</sup> Uno de los indicadores que se utilizan para determinar que la vida de anaquel de la carne de pollo se ha terminado, es la presencia de mal olor y limo. Bilgili (2001) reportó que éstos se desarrollan cuando el número de bacterias alcanzan aproximadamente  $10^7$  a  $10^8$  UFC/cm<sup>2</sup> en canales frescas de pollo. Los productos con una carga bacteriana inicial de  $10^4$  UFC/cm<sup>2</sup> presentará limo en 16 días a una temperatura de almacenamiento de 0 °C, en 5 días a una temperatura de almacenamiento de 5 °C y sólo 2 días cuando se almacena a 10 °C. Estudios han reportaron que la vida útil en almacenamiento a temperaturas de 0 °C es mejor que el almacenamiento a 4 y 7 °C, retrasando así su deterioro.<sup>7</sup>

La detección en el laboratorio de los microorganismos patógenos puede ser complicada, lenta y costosa. Por esas razones, las normas en materia de alimentos generalmente establecen la calidad microbiológica en términos de microorganismos indicadores. Estos son organismos (o grupos) que advierten oportunamente de un manejo inadecuado o contaminación que incrementan el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en alimentos. Además, de que su detección en el laboratorio es más sencilla, rápida y económica.<sup>8, 9, 10</sup> Actualmente, la utilización de mesófilos aerobios y coliformes totales es una herramienta para el control de calidad en productos de origen animal, debido a que, un alto conteo es indicador de malas prácticas de higiene y también una inadecuada temperatura de almacenaje.<sup>8</sup> El recuento de los primeros indica el grado de contaminación de una muestra y las



condiciones que han incrementado o reducido la carga microbiana. Este grupo es un indicador importante en alimentos frescos, refrigerados y congelados, como la carne de ave.<sup>8</sup> Por su parte, las bacterias del grupo coliforme se definen como: bacilos cortos, Gram negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa a 35 °C, en menos de 48 horas, con producción de ácido y gas; que incluye los géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Durante mucho tiempo se consideraron evidencia de contaminación fecal, pero se ha demostrado que muchos de ellos pueden vivir e incluso crecer en el suelo, el agua y otros ambientes. Actualmente, se consideran un excelente indicador de la eficiencia de los procesos de desinfección, así como de calidad sanitaria en agua, vegetales y diversos productos procesados.<sup>8,9</sup>

Un pollo de engorda infectado que llega a la planta de procesamiento puede ser la fuente de contaminación de muchas otras canales. Algunos microorganismos presentes en el intestino de los pollos de engorda, como *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. y coliformes, representan una amenaza para la salud pública.<sup>10</sup> Las canales pueden estar contaminadas con microorganismos de deterioro que reducen la vida útil de los productos cárnicos, pero en la planta de procesamiento se realizan intervenciones para tratar de disminuir la contaminación microbiana de la canal, particularmente de patógenos y bacterias de descomposición, principalmente en el enfriamiento, dado por el prechiller y chiller, como la adición de ciertas sustancias. Otra alternativa puede ser el uso de bacteriófagos, los cuales son virus que sólo infectan y llevan a cabo el proceso de replicación dentro de bacterias destruyéndolas y liberando grandes cantidades de viriones que perpetúan el ataque, pero no todos los fagos pueden ser utilizados con fines terapéuticos, dada su capacidad de supervivencia en el medio y la especificidad.<sup>11,13</sup> Estos bacteriófagos se han aplicado en biología molecular e investigación clínica, principalmente en el tratamiento de infecciones bacterianas (fagoterapia) y contra *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Escherichia* y *Mycobacterium*, resistentes a antibióticos.<sup>12</sup> Las investigaciones indican que dada la especificidad de los fagos será necesario hacer mezclas de ellos para el control de bacterias, por ejemplo *E. coli* o *S. Enteritidis*. Aunque los fagos pueden tener un potencial importante en la

terapéutica avícola, quizá sea más relevante su papel en la prevención de enfermedades o la eliminación de *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. de la carne de pollo.<sup>13</sup>

Los bacteriófagos son un grupo de virus ampliamente distribuidos en la naturaleza, su ciclo de vida está estrictamente asociado con las bacterias. La efectividad y seguridad del uso de bacteriófagos en comparación a los antibióticos, se debe en parte a la especificidad por bacterias particulares, por lo que no se causa daño al microbioma comensal. Estos fueron usados, primeramente, en humanos y, luego, se adaptó esta tecnología a los animales.<sup>14</sup> Rodríguez (2017) menciona las experiencias prácticas que han tenido en granjas utilizando bacteriófagos, además de otros efectos positivos como la ganancia de peso y una conversión alimenticia más eficiente, todo ello, con una mejora en las ganancias para el productor y un mejor retorno de inversión.<sup>14</sup>

Kim *et al.* (2015) realizaron estudios en gallinas infectadas con *Salmonella* spp. en donde el uso de bacteriófagos específicos para esta bacteria, disminuyeron las poblaciones no solo de *Salmonella* spp., sino también encontraron una reducción de poblaciones de *Escherichia coli* en el tracto gastrointestinal de las gallinas, sin afectar el comportamiento productivo y calidad del huevo.

Morales y Olamendi (2020) mencionan que un bacteriófago utilizado para el control de *Salmonella* Enteritidis; tendrá un efecto contra *E. coli* y *Clostridium perfringens* tal como lo indican en su estudio en el que administraron el bacteriófago durante ocho semanas observando un aumento gradual de la pigmentación de las yemas en las aves tratadas y una disminución de la mortalidad que se reflejó con dos más huevos por ave alojada. Tal producto es utilizado en la producción primaria, ya que es aplicado en la dieta para el control de bacterias patógenas como *E. coli*, *Salmonella* spp., *Clostridium perfringens* y *Staphylococcus* spp., y este permite controlar de manera natural las bacterias en el tracto gastrointestinal de los animales, se ha administrado en la dieta de aves, cerdos y terneros, pero hasta la fecha no se ha evaluado la efectividad de este producto en los rastros.<sup>14,16,17</sup>

## Justificación

Los bacteriófagos son específicos, es decir, cada uno reconoce un receptor diferente que le permite adherirse a bacterias específicas.<sup>19</sup> Utilizando un bacteriófago que fue diseñado para el control de *Salmonella* Enteritidis, se contempla el efecto que tiene este bacteriófago contra otras bacterias, ya que en estudios previos se menciona que pudiera tener un efecto sobre otras poblaciones bacterianas.<sup>14, 16, 21</sup>

## Objetivo general

Evaluar el efecto de un bacteriófago administrado en el agua del prechiller en la reducción de los indicadores sanitarios: mesófilos aerobios y coliformes totales de la carga microbiológica de canales de pollo.

## Objetivos particulares

- Tomar muestras de agua antes y después de sumergir las canales en el prechiller.
- Someter las canales de pollo a un prechiller con el bacteriófago previamente disuelto en el agua.
- Realizar lavados de las canales de pollo.
- Llevar a cabo diluciones de las muestras obtenidas del lavado de las canales y de las muestras de agua.
- Realizar el conteo de mesófilos aerobios y coliformes totales.
- Elaborar el análisis de datos.
- Evaluar la adición del bacteriófago.

## **Hipótesis**

La administración de un bacteriófago en el prechiller será capaz de reducir la concentración de bacterias mesófilas y coliformes en canales de pollo.

## **2. MATERIAL Y MÉTODOS**

Este trabajo fue realizado en el Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM (DMZA) con apoyo del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) de la UNAM.

### **→ Obtención de las canales de pollo.**

Se trabajó con 45 canales de pollo Ross 308 de cinco semanas de edad provenientes del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Avícola (CEIEPAv) de la UNAM, las cuales fueron procesadas en la planta de procesamiento del mismo CEIEPAv. Las 45 canales de pollo evisceradas se trasladaron en cajas con hielo hacia el Departamento de Medicina y Zootecnia de Aves (DMZA) como se puede observar en la **figura 1**.



**Figura 1.** Transporte de canales del CEIEPAv al DMZA.

Una vez en el DMZA, las canales fueron divididas de manera aleatoria en tres grupos: grupo 1 testigo negativo, grupo 2 testigo positivo y grupo 3 experimental (con uso del bacteriófago), se utilizaron cinco canales en cada grupo y se realizaron tres réplicas del experimento. Un resumen de lo anterior se puede encontrar en el **cuadro 1**.

**Cuadro 1.** Diseño experimental.

	<b>Grupo 1</b>	<b>Grupo 2</b>	<b>Grupo 3</b>
<b>Características</b>	Testigo negativo	Testigo positivo	Experimental
<i>Número de canales</i>	5	5	5
<i>Número de réplicas</i>	3	3	3
<i>Inoculación</i>	No	Sí	Sí
<i>Aplicación del bacteriófago en el agua de prechiller</i>	No	No	Sí

El tamaño de muestra se determinó con base en el plan de muestreo sugerido por la Comisión Internacional sobre Especificaciones Microbiológicas para los Alimentos (ICMSF por sus siglas en inglés), el cual depende de la gravedad relativa del peligro para la calidad alimentaria o para la salud del consumidor en función de los microorganismos implicados y de la posibilidad de destrucción, supervivencia o multiplicación de los mismos durante la manipulación normal del alimento. Bajo estos criterios, la ICMSF clasifica a los indicadores sanitarios de la siguiente manera, **cuadro 2**:

- **Mesófilos aerobios:** tienen que ver con descomposición. Se escoge el caso 3 (PM3, n=5, c=1), dado que el riesgo puede aumentar en los siguientes segmentos, en el caso del pollo, existe el riesgo de que se rompa la cadena fría.<sup>22</sup>
- **Coliformes totales:** son indicadores sanitarios. Se escoge el caso 6 (PM3, n=5, c=1), ya que es un indicador de contaminación en la canal por un mal eviscerado o contaminación fecal.<sup>22</sup>

**Cuadro 2.** Planes de muestreo sugeridos por el ICMSF para las diferentes combinaciones de riesgo a la salud y condiciones de uso.

<b>Después del muestreo, el alimento será manipulado y consumido en condiciones tales que el riesgo asociado con el microorganismo:</b>			
<b>Riesgo a la salud</b>	<b>Se reduce</b>	<b>No se modifica</b>	<b>Se incrementa</b>
Sin riesgo directo, vida de anaquel, descomposición.	Caso 1 PM3, n = 5, c = 3	Caso 2 PM3, n = 5, c = 2	Caso 3 PM3, n = 5, c = 1
Bajo, indirecto (Indicadores sanitarios).	Caso 4 PM3, n = 5, c = 3	Caso 5 PM3, n = 5, c = 2	Caso 6 PM3, n = 5, c = 1
Moderado, directo, extensión limitada.	Caso 7 PM3, n = 5, c = 2	Caso 8 PM3, n = 5, c = 1	Caso 9 PM3, n = 10, c = 1
Moderado, directo, extensión amplia.	Caso 10 PM2, n = 5, c = 0	Caso 11 PM2, n = 10, c = 0	Caso 12 PM2, n = 20, c = 0
Severo, directo.	Caso 13 PM2, n = 15, c = 0	Caso 14 PM2, n = 30, c = 0	Caso 15 PM2, n = 60, c = 0

Fuente: ICMSF (2002) Microorganisms in Foods 7. Microbiological Testing in Food Safety. Kluwer Academic/Plenum Publishers. E.U.A.

→ **Obtención del bacteriófago.**

El producto utilizado, además del bacteriófago, contiene en su formulación *Bacillus subtilis* a una concentración de  $10^{7.5}$  UFC/g.

Se realizaron estudios previos para saber la concentración propia del bacteriófago en el producto el cual arrojó una concentración de  $10^{6.6}$  UFP/ml.

→ **Preparación del inóculo.**

Se trabajó con una cepa de *Salmonella enterica* serovariedad Enteritidis donada por el Dr. Gerardo Nava Morales de la Universidad Autónoma de Querétaro, la cual fue aislada a partir de un rastro de pollos. En una prueba piloto llamada procedimiento operativo estándar, la cual es una prueba de control de calidad del producto, tanto para verificar la presencia del bacteriófago como para determinar la susceptibilidad bacteriana a este, se demostró que la cepa empleada era sensible a la acción del bacteriófago. Esta prueba piloto se resume en el **cuadro 3**.

**Cuadro 3.** Procedimiento operativo estándar.

---

**Día 1**

- *Salmonella* Enteritidis se incubó en 10 ml de TSB (caldo soya tripticaseína) durante 12 horas a 37 °C a 200 rpm.

---

**Día 2**

**Ajuste de bacteria**

- Del cultivo anterior, se añadieron 2 ml en un tubo Falcon estéril más 30 ml de TSB y se incubó por 2 horas a 37 °C a 200 rpm, para alcanzar una D.O de 600 nm y 0.5 a 0.6 de absorbancia.

**Ajuste del bacteriófago**

- Se disolvieron 3 g del bacteriófago en 30 ml de PBS y se homogenizó por 10 minutos. Posteriormente, se filtró el bacteriófago por un filtro grueso estéril.
  - Se centrifugó el bacteriófago a 4 000 rpm durante 5 minutos.
  - Se recuperó el sobrenadante y se volvió a filtrar con un filtro grueso estéril.
-

- 
- El bacteriófago se centrifugó nuevamente a 4 000 rpm durante 5 minutos.
  - El sobrenadante del bacteriófago fue filtrado una vez más por un filtro fino estéril de 0.45 micras y después por uno de 0.22 micras.
  - De la última filtración se obtuvo 1 ml con el cual se hicieron cuatro diluciones décuples seriadas.

### **Ensayo en placa**

- En tubos eppendorf estériles se agregaron 200 µl del cultivo bacteriano y 200 µl de cada dilución del fago correspondiente. Al control negativo se agregó, de igual manera, 200 µl del cultivo bacteriano y 200 µl de PBS.
- Los cultivos se incubaron por agitación durante 20 minutos a 37 °C.
- En tubos Falcon estériles se añadieron 3 ml de top agar estéril y se mezcló con 200 µl de los cultivos anteriores respectivamente.
- Se vertió cada mezcla en placa de agar Müller- Hinton, para formar una capa uniforme.
- Se dejó solidificar la capa superior de agar a temperatura ambiente durante 10 minutos.
- Posterior a la solidificación, se dejó en incubación a 37 °C durante 24 horas.

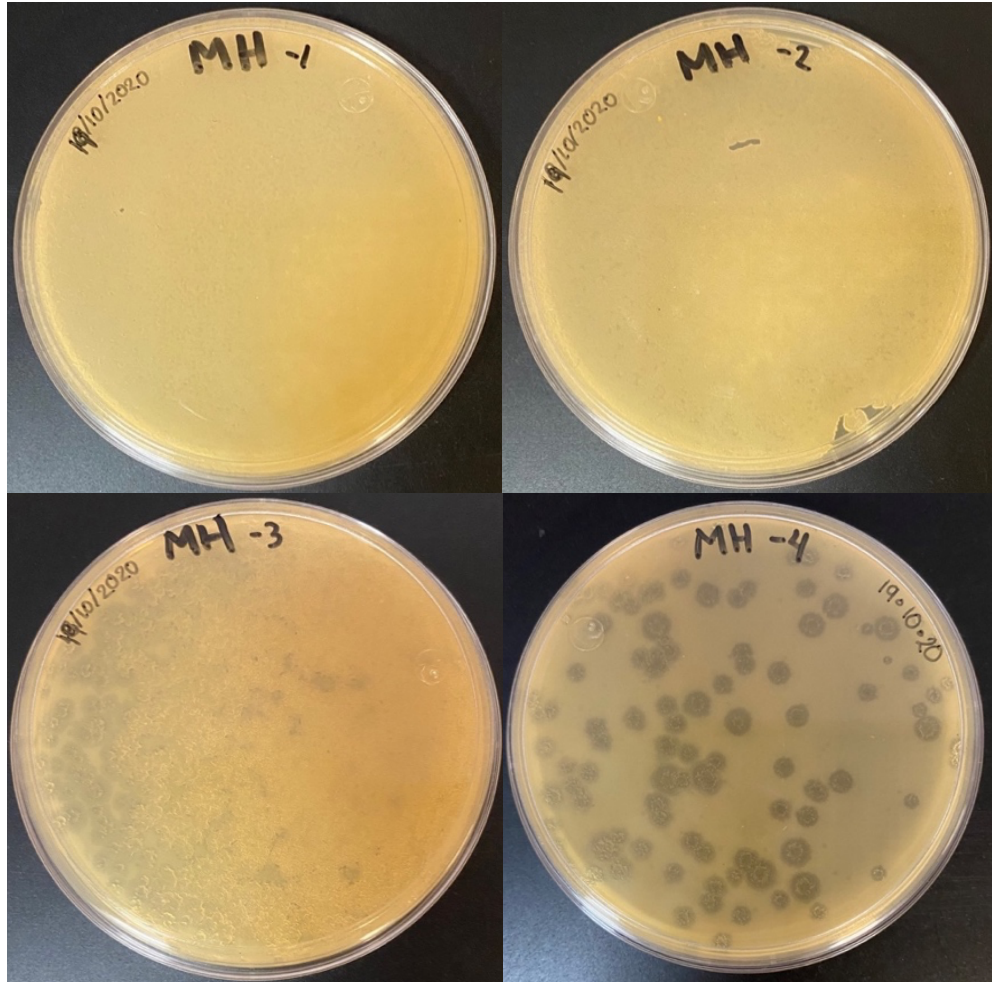
---

### **Día 3**

- Transcurridas las 24 horas se observó la formación de placa de bacteriófagos.
  - Los resultados se encuentran en la **figura 2**.
- 

Fuente: CTCBIO INC. Standard operating procedure. A method to examine the susceptibility of bacteria to our product. E.U.A.





**Figura 2.** Resultado del procedimiento operativo estándar para la determinación de sensibilidad de la cepa de *Salmonella enterica* serovariedad Enteritidis al bacteriófago en agar Müller-Hinton.

Para preparar la cepa de *S. Enteritidis* se incubó durante 24 horas a 37 °C con agitación a 200 rpm en 30 ml de caldo infusión cerebro corazón, posteriormente se procedió a realizar el lavado de la bacteria, el cual consiste en centrifugar por 15 minutos a 2 500 rpm para obtener una pastilla bacteriana, el sobrenadante se decantó y se agregó 30 ml de PBS para realizar de nuevo una centrifugación y obtener la pastilla bacteriana, con esta última se realizó el ajuste de la bacteria en el espectrofotómetro a 450 nm y 1.050 de absorbancia para lograr una concentración de la bacteria de  $10^9$  UFC/ml.<sup>23</sup> Después, mediante tres diluciones décuples seriadas se llegó a una concentración de  $10^6$  UFC/ml, para lograr una concentración de por lo menos dos logaritmos por debajo de la concentración del bacteriófago utilizado en el agua de prechiller.<sup>24, 25</sup>

→ **Inoculación de las canales.**

Una vez obtenido el inóculo se colocó en un frasco aspersor de vidrio previamente estéril, para facilitar la inoculación de las canales, las cuales fueron asperjadas con 1 ml de la dilución en la cavidad celómica y posteriormente se mantuvieron a temperatura ambiente durante 20 minutos.

→ **Prechiller y lavado de las canales.**

El bacteriófago administrado y disuelto en el agua del prechiller del grupo experimental se agregó previo a la toma de temperatura y muestreo del agua, se añadió 660 g por 20 litros de agua, esto con base en el procedimiento operativo estándar y a la cantidad recomendada por el producto. El bacteriófago fue añadido en el prechiller, ya que es el lugar donde están todas las canales sumergidas en una temperatura óptima para su activación (Ávila E. *et al*, 2018).

Se colocaron las canales en el agua del prechiller durante 15 minutos y usando un remo por cada grupo, previamente lavado y desinfectado con cloro, se simuló el movimiento constante en el que éstas se encuentran (Owens *et al.*, 2010), **figura 3**; posteriormente, se realizó el lavado de las canales, para ello, se colocó cada canal en una bolsa de plástico individual estéril con 100 ml de solución amortiguadora de fosfato (PBS) y se realizó un lavado durante 1 minuto cubriendo el interior y el exterior de la canal mediante frotamiento manual, como se observa en la **figura 4**.<sup>26</sup>



**Figura 3.** Canales en prechiller en movimiento con ayuda de un remo.



**Figura 4.** Lavado de canal con PBS en bolsa de plástico estéril.

Posteriormente se tomó 1 ml del agua de lavado y se realizaron seis diluciones décuples seriadas en tubos con PBS, de acuerdo con la NOM-110-SSA1-1994.

→ **Muestreo del agua del prechiller.**

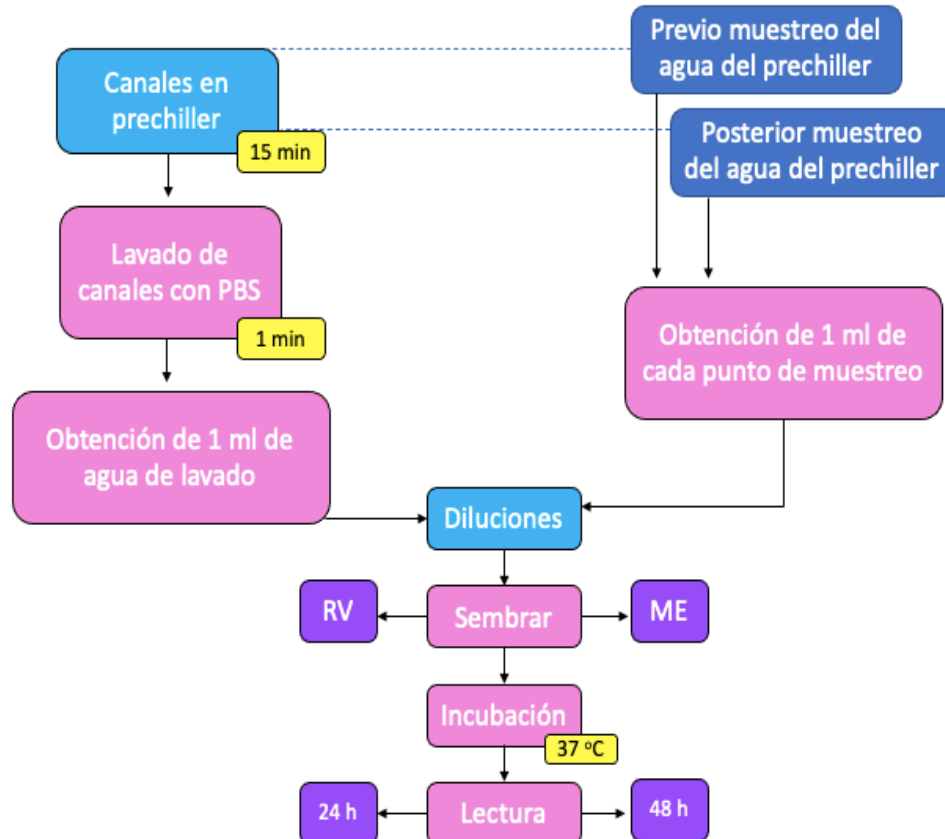
Se tomaron muestras del agua de prechiller de los tres grupos (testigo positivo, testigo negativo y experimental) antes y después de introducir las canales y se realizaron seis diluciones décuples seriadas. Se sembraron tres gotas de 10  $\mu$ l cada una en una placa de agar métodos estándar (ME) y tres gotas de 10  $\mu$ l cada una en una placa de agar rojo violeta bilis (RV), esto por cada dilución, se incubaron las placas a 37°C para su lectura a las 24 y 48 horas.

→ **Monitoreo de temperatura del agua del prechiller.**

Mientras las canales estaban en el prechiller, se estuvo monitoreando la temperatura del agua a los 0, 5, 10 y 15 minutos, esto para observar bajo que temperatura se mantenía el bacteriófago, ya que la temperatura del agua oscila entre 7 a 12 °C (Ávila *et al.*, 2018), logrando una temperatura en la canal de por arriba de los 36 °C (Quintana, 2011).

→ **Conteo de mesófilos aerobios y coliformes totales.**

Para el conteo de colonias, se tomaron en cuenta aquellas diluciones que tenían crecimiento de entre 30 y 300 colonias. En la **figura 5** se muestra un diagrama de esta etapa.



**Figura 5.** Diagrama de obtención, siembra, incubación y lectura de las muestras en agares para conteo de mesófilos aerobios y coliformes totales.

### → Análisis de datos

Los grupos (1: testigo negativo, 2: testigo positivo y 3: experimental) fueron comparados en cada hora de muestreo (24 y 48 horas) por separado.

Los datos de los mesófilos y coliformes obtenidos de la transformación de logaritmo base 10 de las UFC fueron analizados a través de un Análisis de Varianza (ANOVA) para un Diseño Completamente al Azar (DCA), complementariamente, se utilizó el ajuste de Welch para el ANOVA con heterogeneidad de varianzas como método de confirmación de los resultados.

Para los datos de las muestras de agua se optó por un ANOVA para un diseño factorial 3X2, donde el primer factor fueron los grupos (1, 2 y 3) y el segundo factor la variable lavado que corresponde al momento en que se tomó la muestra de agua (previo a sumergir las canales en el prechiller y posterior a ello).

En aquellas variables donde existió diferencia estadística significativa se empleó la prueba de Tukey para realizar la comparación múltiple de las medias. Se fijó un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$  en todas las pruebas estadísticas utilizadas.

Se estimaron Intervalos de Confianza al 95 % para la media a través de la técnica de Bootstrap ( $n = 5\ 000$ ) para confirmar los resultados.<sup>28</sup>

El procesamiento y análisis de los datos se realizó con el paquete estadístico R (R Core Team [2017]. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria).<sup>29</sup>

### 3. RESULTADOS

→ **Resultados de lavado de canales.**

#### **Mesófilos**

En el **cuadro 4** se muestran las estadísticas descriptivas para UFC/ml  $\log_{10}$  de los conteos de mesófilos en lavados de canales registrados a las 24 y 48 horas.

**Cuadro 4.** Estadística descriptiva de mesófilos en los lavados de canales a las 24 y 48 horas.

Medición	Grupo	Tamaño de muestra	Media	Desviación estándar	Mínimo	Mediana	Máxima
24 horas	1	15	5.49	0.26	5.17	5.43	5.95
	2	15	6.03	0.63	5.17	6.30	6.75
	3	15	7.11	0.22	6.85	7.04	7.52
48 horas	1	15	5.59	0.26	5.22	5.60	5.95
	2	15	6.05	0.63	5.19	6.30	6.75
	3	15	7.13	0.21	6.87	7.05	7.52

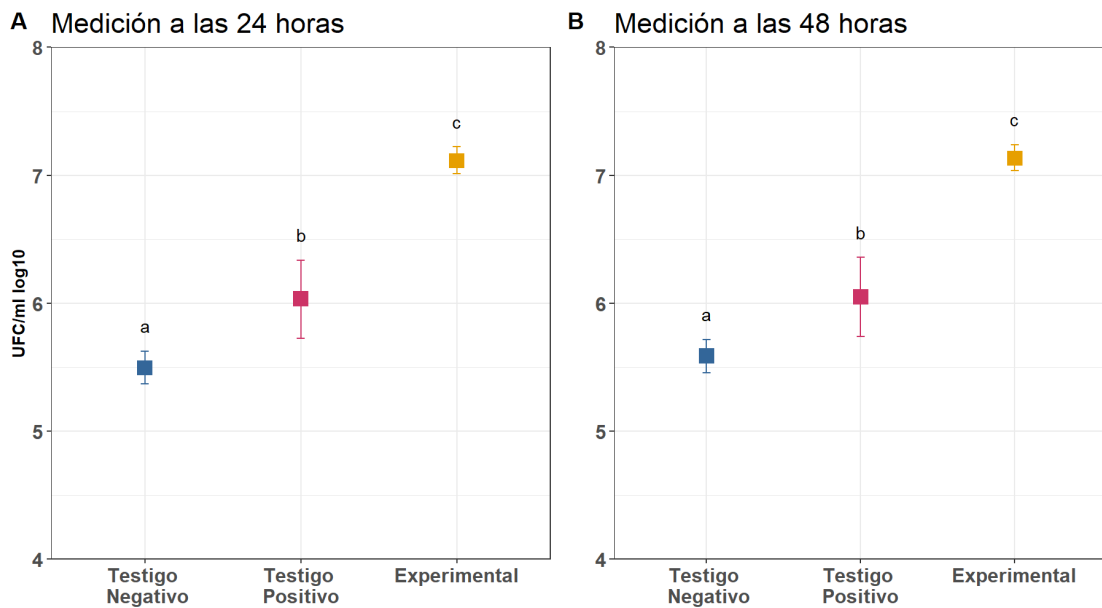
Los resultados para las UFC/ml  $\log_{10}$  de los conteos de mesófilos en lavados de canales registrados a las 24 y 48 horas se muestran en el **cuadro 5** y **figura 6**. Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los grupos a las 24 horas de medición ( $P < 0.001$ ), el grupo negativo presentó las mediciones más bajas con 5.49 UFC/ml  $\log_{10}$ , seguido por el grupo positivo con 6.03 UFC/ml  $\log_{10}$ , el grupo experimental fue el que presentó los valores más altos 7.11 UFC/ml  $\log_{10}$ . A las 48 horas se presentaron resultados semejantes ( $P < 0.001$ ), en los cuales el grupo negativo presentó los valores más bajos con 5.59 UFC/ml  $\log_{10}$  en comparación con el grupo positivos 6.05 UFC/ml  $\log_{10}$  y el grupo experimental 7.13 UFC/ml  $\log_{10}$ .

**Cuadro 5.** Resultados de los conteos de mesófilos en lavados de canales a las 24 y 48 horas.

Medición	Grupo	Media*	EEM	IC95%B_Inf	IC95%B_Sup
24 horas	1	5.49a	0.107	5.37	5.62
	2	6.03b	0.107	5.73	6.34
	3	7.11c	0.107	7.01	7.22
48 horas	1	5.59a	0.107	5.46	5.72
	2	6.05b	0.107	5.74	6.36
	3	7.13c	0.107	7.04	7.24

\*Diferentes literales indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.001$ , Prueba de Tukey).

EEM: Error Estándar de la Media; IC95%B\_Inf e IC95%B\_Sup: Límite Inferior y Superior del Intervalo de Confianza 95% para la media calculado mediante la técnica de Bootstrap ( $n = 5000$ ).



Las barras de error indican el intervalo de confianza del 95% para la media  
Diferentes literales indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ , Prueba de Tukey).

**Figura 6.** Resultados de lectura a las 24 y 48 horas. **A)** Logaritmo base 10 de las UFC/ml de mesófilos de lavados de canales a las 24 horas y **B)** Logaritmo base 10 de las UFC/ml de mesófilos de lavados de canales a las 48 horas.

## Coliformes

En el **cuadro 6** se muestran las estadísticas descriptivas para UFC/ml  $\log_{10}$  de los conteos de coliformes en lavados de canales registrados a las 24 y 48 horas.

**Cuadro 6.** Estadística descriptiva de coliformes en los lavados de canales a las 24 y 48 horas.

Medición	Grupo	Tamaño de muestra	Media	Desviación estándar	Mínimo	Mediana	Máximo
24 horas	1	15	4.85	0.37	5.37	5.00	5.29
	2	15	5.32	0.83	5.73	5.48	6.40
	3	12	5.13	0.90	7.01	5.29	6.49
48 horas	1	15	4.89	0.39	4.05	5.03	5.43
	2	15	5.29	0.79	4.21	5.12	6.29
	3	11	5.10	0.90	4.03	5.30	6.22

\*Fueron descartados del análisis 7 muestras (3 de 24 horas y 4 de 48 horas) debido a que no fueron detectados conteos.

No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los grupos a las 24 horas de medición ( $P = 0.211$ ), ni a las 48 horas ( $P = 0.309$ ), **cuadro 7 y figura 7**.

**Cuadro 7.** Resultados de los conteos de coliformes en lavados de canales a las 24 y 48 horas.

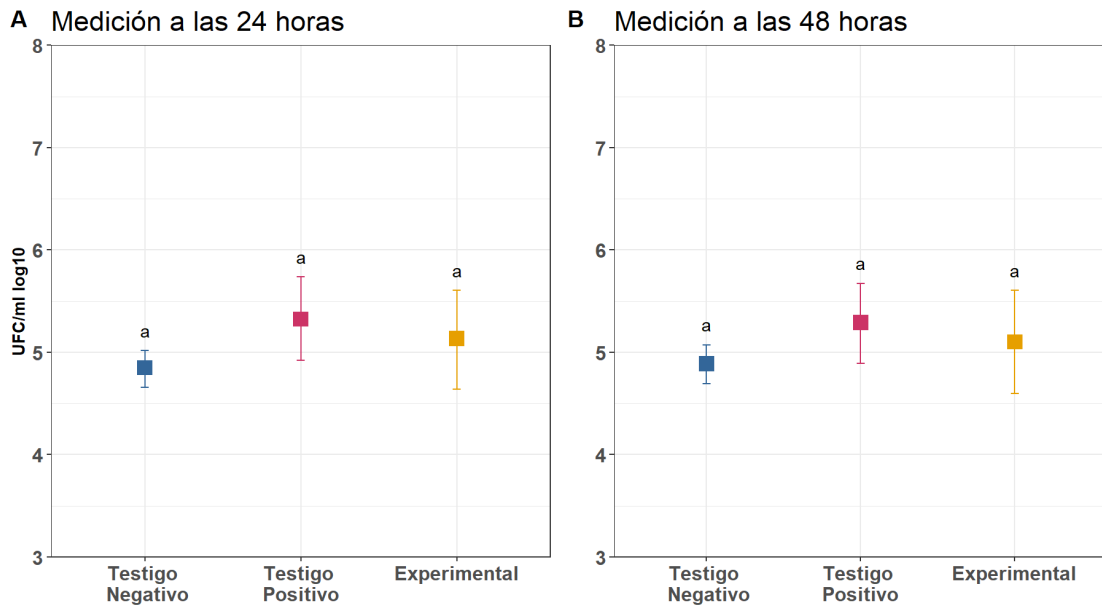
Medición	Grupo	Media*	EEM	IC95%B_Inf	IC95%B_Sup	
24 horas	1	4.85	0.187	4.66	5.02	
	<b>P = 0.211</b>	2	5.32	0.187	4.92	5.74
		3	5.13	0.209 <sup>1</sup>	4.64	5.61
48 horas	1	4.89	0.182	4.69	5.07	
	<b>P = 0.309</b>	2	5.29	0.182	4.89	5.67
		3	5.10	0.212 <sup>1</sup>	4.59	5.61

\*La ausencia de literales indica que no se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ).

<sup>1</sup>Fueron descartadas 7 muestras debido a que no presentaron conteos y podrían generar sesgos (n=12 a 24h y n=11 a 48h).

EEM: Error Estándar de la Media; IC95%B\_Inf e IC95%B\_Sup: Límite Inferior y Superior del Intervalo de Confianza 95% para la media calculado mediante la técnica de Bootstrap (n = 5000).





Las barras de error indican el intervalo de confianza del 95% para la media  
 Literales iguales indican que no se encontraron diferencias estadísticas significativas ( $P > 0.05$ ).

**Figura 7.** Resultados de lectura a las 24 y 48 horas. **A)** Logaritmo base 10 de las UFC/ml de coliformes de lavados de canales a las 24 horas. y **B)** Logaritmo base 10 de las UFC/ml de coliformes de lavados de canales a las 48 horas.

→ **Resultados de muestras de agua.**

### Mesófilos

Es importante resaltar que la adición del bacteriófago en el agua del grupo experimental fue previa a la toma de muestra del agua del prechiller.

El **cuadro 8** muestra las estadísticas descriptivas para el logaritmo base 10 de las UFC/ml de los conteos de mesófilos en muestras de agua a las 24 y 48 horas.

**Cuadro 8.** Estadística descriptiva de mesófilos en muestras de agua a las 24 y 48 horas.

Medición	Grupo	Lavado	Media	Desviación estándar	Mínimo	Mediana	Máximo
<i>24 horas</i>	1	Pre	1.81	1.57	0.00	2.52	2.89
	1	Post	5.32	0.74	4.73	5.07	6.15
	2	Pre	0.88	1.53	0.00	0.00	2.65
	2	Post	4.72	0.61	4.03	4.99	5.16
	3	Pre	6.93	0.04	6.91	6.91	6.98
	3	Post	6.95	0.38	6.65	6.81	7.38
<i>48 horas</i>	1	Pre	2.63	0.27	2.35	2.65	2.89
	1	Post	5.42	0.68	4.83	5.28	6.16
	2	Pre	2.65	1.56	0.00	2.35	2.95
	2	Post	4.81	0.66	4.07	5.01	5.35
	3	Pre	7.02	0.06	6.95	7.03	7.06
	3	Post	6.97	0.37	6.68	6.84	7.38

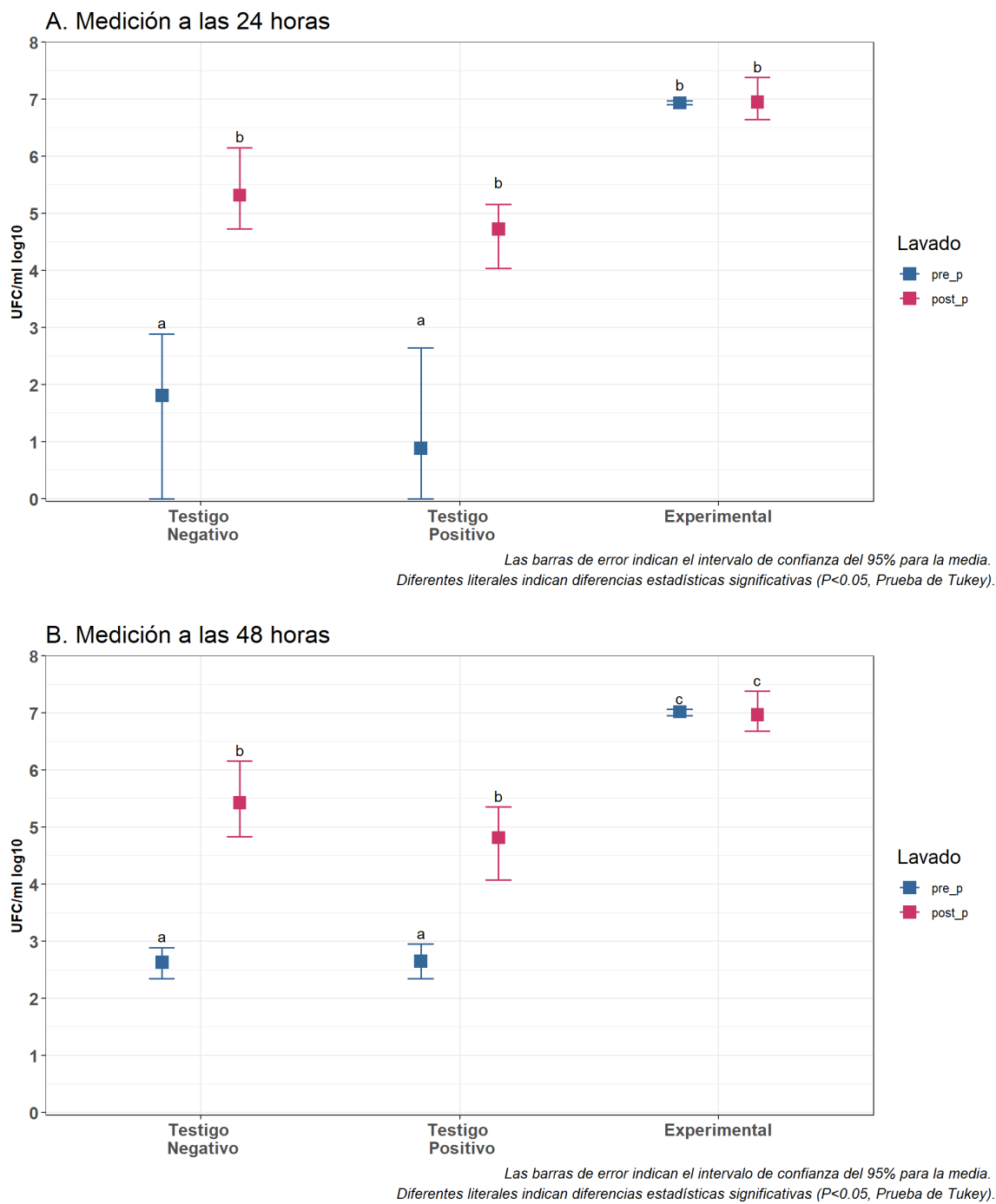
Se encontró interacción entre el grupo y el momento de muestreo del agua tanto a las 24 ( $P = 0.01$ ) como a las 48 horas ( $P < 0.001$ ). Las UFC/ml  $\log_{10}$  de los mesófilos en el agua incrementó en las muestras tomadas después de sumergir las canales no inoculadas en comparación con las muestras basales (1.81 vs 5.32 UFC/ml  $\log_{10}$ ), ese mismo comportamiento se repitió en las muestras tomadas a los prechiller del grupo donde las canales fueron inoculadas (0.88 vs 4.72 UFC/ml  $\log_{10}$ ). Sin embargo, en el agua de los prechiller donde se utilizó el bacteriófago la carga bacteriana no incremento después de sumergir las canales inoculadas (6.93 vs 6.95 UFC/ml  $\log_{10}$ ). Los resultados a las 48 horas muestran el mismo patrón que a las 24 horas, **cuadro 9 y figura 8.**

**Cuadro 9.** Resultados de los conteos de mesófilos de muestreo del agua a las 24 y 48 horas.

Medición	Grupo	Lavado de Canal	Media*	EEM	IC95%B_Inf	IC95%B_Sup
24 horas	1	Previo	1.81a	0.572	0.00	2.89
		Posterior	5.32b	0.572	4.73	6.15
	2	Previo	0.88a	0.572	0.00	2.65
		Posterior	4.72b	0.572	4.03	5.16
	3	Previo	6.93b	0.572	6.91	6.97
		Posterior	6.95b	0.572	6.65	7.38
48 horas	1	Previo	2.63a	0.27	2.35	2.89
		Posterior	5.42b	0.27	4.83	6.16
	2	Previo	2.65a	0.33	2.35	2.95
		Posterior	4.81b	0.27	4.07	5.35
	3	Previo	7.02c	0.27	6.95	7.06
		Posterior	6.97c	0.27	6.68	7.38
<b>Probabilidad</b>			<b>24 horas</b>	<b>48 horas</b>		
Grupo			<0.001	<0.001		
Lavado			<0.001	<0.001		
Grupo*Lavado			0.01	<0.001		

\*Diferentes literales entre las interacciones indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ , Prueba de Tukey).

EEM: Error Estándar de la Media; IC95%B\_Inf e IC95%B\_Sup: Límite Inferior y Superior del Intervalo de Confianza 95% para la media calculado mediante la técnica de Bootstrap ( $n = 5000$ ).



**Figura 8.** Resultados de lectura a las 24 y 48 horas. **A)** Logaritmo base 10 de las UFC/ml de mesófilos en muestra de agua y **B)** Logaritmo base 10 de las UFC/ml de mesófilos en muestra de agua.

## Coliformes

El **cuadro 10** muestra las estadísticas descriptivas para el logaritmo base 10 de las UFC/ml de los conteos de coliformes en muestras de agua a las 24 y 48 horas.

**Cuadro 10.** Estadística descriptiva de coliformes en muestras de agua a las 24 y 48 horas.

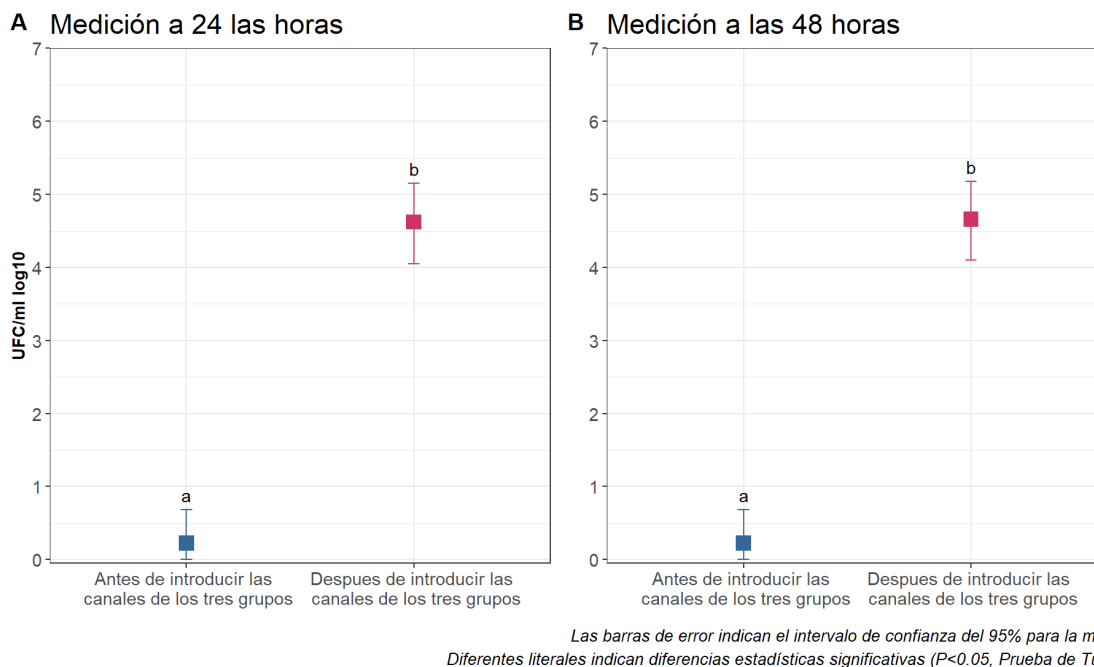
Medición	Grupo	Lavado	Media	Desviación estándar	Mínimo	Mediana	Máximo
<i>24 horas</i>	1	Pre	0.68	1.18	0.00	0.00	2.05
	1	Post	5.14	0.80	4.24	5.47	5.72
	2	Pre	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	Post	4.44	0.63	3.71	4.73	4.87
	3	Pre	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	3	Post	4.29	1.29	2.89	4.52	5.44
<i>48 horas</i>	1	Pre	0.68	1.18	0.00	0.00	2.05
	1	Post	5.16	0.78	4.27	5.49	5.72
	2	Pre	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	2	Post	4.47	0.62	3.75	4.77	4.89
	3	Pre	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	3	Post	4.36	1.20	3.09	4.52	5.46

No se encontró interacción entre los grupos y el momento de muestreo del agua tanto a las 24 ( $P = 0.981$ ) como a las 48 horas ( $P = 0.989$ ). Tampoco fueron detectadas diferencias entre los grupos independientemente del momento de muestreo a las 24 horas ( $P = 0.246$ ) ni a las 48 horas ( $P = 0.241$ ). Sin embargo, si fueron encontradas diferencias en cuanto a los valores de las UFC/ml  $\log_{10}$  de coliformes antes y después de sumergir las canales en los prechiller independientemente del grupo (24 horas:  $P < 0.001$  [0.23 vs 4.62 UFC/ml  $\log_{10}$ ]; 48 horas:  $P < 0.001$  [0.23 vs 4.66 UFC/ml  $\log_{10}$ ]). Los resultados completos se muestran en el **cuadro 11** y **figura 9**.

**Cuadro 11.** Resultados de los conteos de coliformes de muestreo del agua a las 24 y 48 horas.

<b>Medición</b>	<b>Factor</b>		<b>Media*</b>	<b>EEM</b>	<b>IC95%B_Inf</b>	<b>IC95%B_Sup</b>
<i>24 horas</i>	Grupo	1	2.91	0.338	1.02	4.78
		2	2.22	0.338	0.62	3.99
		3	2.14	0.338	0.48	3.96
	Lavado	Previo	0.23a	0.276	0.00	0.68
		Posterior	4.62b	0.276	4.05	5.15
	<i>48 horas</i>	Grupo	1	2.92	0.326	0.96
2			2.24	0.326	0.63	3.89
3			2.18	0.326	0.51	4.00
Lavado		Previo	0.23a	0.266	0.00	0.68
		Posterior	4.66b	0.266	4.10	5.18
<b>Probabilidad</b>			<i>24 horas</i>	<i>48horas</i>		
Grupo			0.246	0.241		
Lavado			<0.001	<0.001		
Grupo*Lavado			0.981	0.989		

\*Diferentes literales entre factores indican diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ , Prueba de Tukey).  
 EEM: Error Estándar de la Media; IC95%B\_Inf e IC95%B\_Sup: Límite Inferior y Superior del Intervalo de Confianza 95% para la media calculado mediante la técnica de Bootstrap ( $n = 5000$ ).



**Figura 9.** Resultados de lectura a las 24 y 48 horas. **A)** Logaritmo base 10 de las UFC/ml de mesófilos en muestra de agua y **B)** Logaritmo base 10 de las UFC/ml de mesófilos en muestra de agua.

→ **Monitoreo de temperatura del agua del prechiller.**

Con respecto al monitoreo de temperatura en el agua del prechiller se muestran los resultados en el **cuadro 12**, en el cual se puede observar que las condiciones de temperatura del agua fueron similares en los tres grupos.

**Cuadro 12.** Temperatura del agua mientras las canales estaban sumergidas en el prechiller de los diferentes grupos.

<b>Grupos</b>	<b>Tiempo (minutos)</b>			
	<i>0</i>	<i>5</i>	<i>10</i>	<i>15</i>
1	19.7 °C	18.8 °C	18.5 °C	18.6 °C
2	18.4 °C	18.3 °C	18.1 °C	18.0 °C
3	19.0 °C	18.5 °C	18.3 °C	18.2 °C

## 4. DISCUSIÓN

El presente estudio tuvo la finalidad de evaluar la acción de un bacteriófago adicionado en el agua del prechiller para conocer su efecto sobre el conteo en placa de indicadores sanitarios como fueron mesófilos aerobios y coliformes totales. En la industria avícola durante el procesamiento los bacteriófagos se han usado en el lavado, en el chiller, por aspersión después del enfriamiento y vía oral 12 horas antes de la matanza (Żbikowska *et al.*, 2020; Deitch, 2014; Hungaro *et al.*, 2013; Gonçalves *et al.*, 2014), en nuestro conocimiento, este es el primer trabajo en el cual se evalúa la aplicación de los bacteriófagos en el prechiller; ya que previamente se han empleado tanto para prevenir como para tratar enfermedades bacterianas, como desinfectante sobre superficies (Ornellas *et al.*, 2017), inclusive, son utilizados en la industria alimenticia como en carne molida de res y aves de corral (Hsu *et al.*, 2002) o como aditivo en el alimento de pollos como lo menciona Osorio (2015); de hecho, el producto que se empleó en este trabajo fue diseñado para la adición en el alimento.

Con respecto a los mesófilos aerobios, es importante considerar que un nivel de contaminación inicial de  $10^4$  a  $10^5$  UFC/ml puede ser aceptable (Castañeda *et al.*, 2013). González *et al.* (2014) refieren que el crecimiento microbiano es la principal causa del deterioro de la carne, por lo que el tipo y el número de microorganismos son factores importantes que inciden en la velocidad de alteración; como consecuencia de ello, se presentan cambios sensoriales indeseables en el olor y la apariencia que son determinantes en la aceptación y vida útil; cuando la alteración microbiológica de la carne es detectada por la aparición de olores, sabores o apariencia anómalos, normalmente desagradables, se dice, a nivel general, que tiene más de  $10^6$  UFC/ml; se acepta que recuentos de bacterias mesófilas aerobias  $10^7$  UFC/ml son el punto aproximado a partir del cual la carne termina con su vida de anaquel. Dainty *et al.* (1992) determinan que la vida útil está limitada por el crecimiento microbiano que conduce a malos olores cuando los números alcanzan alrededor de  $10^7$  UFC/g –  $10^8$  UFC/g. Russell (1996), reportó una media de 4.0 –



4.7 y 3.4  $\log_{10}$  UFC/ml para mesófilos aerobios y coliformes totales, respectivamente, en canales, obtenidas del sistema de enfriamiento por inmersión. Cason (2006), reportó una media 3.1  $\log_{10}$  UFC/ml para coliformes totales, en canales obtenidas por el mismo sistema de enfriamiento. Northcutt (2005), reportó los niveles de bacterias que se encuentran en las canales después del lavado de 4.6  $\log_{10}$  UFC/ml de enjuague para las bacterias aeróbicas totales y 3.6  $\log_{10}$  UFC/ml para coliformes. En el caso de nuestro trabajo, las canales al estar en contacto con *Bacillus subtilis* contenido en el producto comercial aumentó la concentración de mesófilos aerobios a las 24 horas de 7.11  $\log_{10}$  UFC/ml y a las 48 horas de 7.13  $\log_{10}$  UFC/ml, por lo cual interfiere con la concentración real presente en la canal. El producto contiene *Bacillus subtilis* dentro de su formulación el cual incrementó el conteo de mesófilos de la canal. En el pollo este microorganismo sirve como probiótico, mismo que ha sido utilizado desde 1986 para mejorar el rendimiento productivo en pollos de engorda (Medina-Saavedra *et al.*, 2017); sin embargo, este mismo *Bacillus subtilis* interfirió con los conteos realizados; el bacteriófago ya se tiene estandarizado para aplicar en el alimento, pero no para la planta de procesamiento. En nuestro trabajo no se logró encontrar un efecto sobre los conteos de coliformes, no hubo una diferencia estadística con respecto al grupo experimental y los grupos testigos. Lau *et al.* (2010) y Atterbury *et al.* (2007) mencionan que cuando no se obtienen resultados positivos en parámetros productivos u otros indicadores, se puede deber a la incapacidad de proliferación de los bacteriófagos, ya sea por la falta afinidad por la temperatura, que la bacteria objetivo no esté presente o por errores de dosificación. Wernicki (2017) y Kazi *et al.* (2016) mencionan que otras circunstancias como la especificidad para actuar sobre bacterias seleccionadas y la capacidad de infectar solo una especie, serotipo o cepa también podrían afectar el funcionamiento de los bacteriófagos, en el caso de nuestro trabajo, probablemente las cepas presentes en las canales de pollo no eran sensibles a este bacteriófago.

En las muestras de agua de los prechiller incrementó la concentración después de sumergir las canales debido a que la canal de pollo posee tres tipos generales de microorganismos que pueden contaminar la canal afectando la vida de anaquel, los

cuales constituyen la población microbiana de las aves de corral: la biota natural de la piel, la transitoria de las plumas que pasa a la piel en el momento del sacrificio, y los contaminantes a la piel que se adquieren durante el procesamiento, y por lo tanto, esta pudo diluirse en el agua incrementando su conteo inicial (Cox *et al.*, 2010). Cason *et al.* (2004) mencionan que los pollos sanos llegan a las plantas de procesamiento con muchos millones de bacterias, tanto internas como externas, las bacterias del tracto intestinal se separan de la canal cuando se extraen las vísceras, pero en el transcurso del procesamiento, algunas de esas bacterias pueden escapar y contaminar el resto de las canales y el equipo. Owen *et al.* (2010) refieren que el paso del prechiller en sí mismo sin ningún desinfectante tiene poco efecto en la reducción de microorganismos en las canales de pollos de engorda, ya que su función principal es permitir una transición gradual de la temperatura de la canal antes de entrar al chiller. Normalmente los bacteriófagos son activos a diferentes temperaturas, aunque diversos resultados demuestran una mejor actividad de bacteriófagos a la temperatura de crecimiento de su hospedador, esto no dificulta su aplicación a bajas temperaturas (Hungaro *et al.*, 2013), sin embargo, el que se encontraba contenido en el producto podía actuar en una temperatura por arriba de 7 °C; en el presente estudio durante el monitoreo de temperatura del prechiller, se mantuvo en condiciones similares en los tres grupos, con respecto a que la temperatura del agua pudiera explicar la falta de respuesta del producto sobre el conteo de los coliformes.

## 5. CONCLUSIONES

No se obtuvieron resultados concluyentes que evidencien impacto del bacteriófago en los indicadores sanitarios analizados, en gran medida a la presencia de *Bacillus subtilis* en la formulación del producto. Por ello, se recomienda rediseñar el producto para su uso en planta de procesamiento sin la adición del *Bacillus subtilis*, ya que modifica el conteo de mesófilos y, por lo tanto, la manera de determinar la vida de anaquel.

## 6. REFERENCIAS

- 1 Unión Nacional de Avicultores. Situación de la avicultura mexicana. Expectativas 2020. [Internet] 2020. [Citado el 16 de Julio 2021]. Disponible en: <http://una.org.mx/industria/>.
- 2 Quintana J. Avitecna. Manejo de las aves domésticas más comunes. Cuarta edición. México: Trillas; 2011.
- 3 Geornaras I, Sofos J. Animal source food: quality and safety - milk and eggs. In Encyclopedia of Animal Science. EUA: W. Pond and A. Bell editors; 2010.
- 4 Doyle P, Buchanan P. Food microbiology: fundamentals and frontiers. Fourth edition. EUA: American society for microbiology press; 2012.
- 5 López H, Braña V, Hernández H. Estimación de la vida de anaquel de la carne. Libro técnico No. 11, INIFAP, Ajuchitlán. México; 2013.
- 6 Owens C, Alvarado C, Sams A. Poultry meat processing. Second edition. EUA: CRC Press; 2010.
- 7 Bilgili F. Worthwhile operational guidelines & suggestions: broiler processing timely information: product shelf-life. EUA: Poultry Science; 2001.
- 8 Facultad de Química-UNAM. Microorganismos indicadores. [Internet] 2013. [Citado 10 de Febrero 2021]. Disponible en: [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores\\_6422.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/2Indicadores_6422.pdf).
- 9 Pierson M, Smoot L. Indicator microorganisms and microbiological criteria. In: food microbiology. Second edition. USA: Fundamentals and Frontiers; 2001.
- 10 Rasschaert G, Houf K, Godard C, Wildemaue C, *et al.* Contamination of carcasses with *Salmonella* during poultry slaughter. Journal of Food Protection 2008; 71(1): 146-152.
- 11 Scallan E, Hoekstra R, Angulo F, *et al.* Foodborne illness acquired in the United States - major pathogens. Emerging Infectious Diseases 2011; 17(1): 7-15.
- 12 Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. Los bacteriófagos como una alternativa en el tratamiento de enfermedades infecciosas bacterianas

- (Fagoterapia). [Internet] 2010. [Citado el 3 de Junio 2021]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/579/57916078003.pdf>.
- 13 Sumano H, Gutiérrez L. Farmacología clínica en aves comerciales. Cuarta edición. México: Mc Graw Hill; 2010.
  - 14 Castrillo L, Marín X. Bacteriófagos. Revista universidad técnica nacional. 433 (79): 28-29. [Internet] 2017. [Citado el 24 de Julio 2021] Disponible en: <https://www.utn.ac.cr/sites/default/files/attachments/UTN%20INFORMA%2079.pdf>
  - 15 Kim H, Kim W, *et al.* Effect of dietary supplementation of bacteriophage on performance, egg quality and caecal bacterial populations in laying hens. *British poultry science*, 56(1), pp. 132–136. [Internet] 2015. [Citado el 2 de Octubre 2021] Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00071668.2014.991272>
  - 16 Morales O, Olamendi D. BM editores. Bacteriófagos. [Internet] 2020. [Citado el 14 de Julio 2021]. Disponible en: <https://bmeditores.mx/avicultura/bacteriofagos/>.
  - 17 BM editores. CTCBIO Inc., Empresa líder en innovación de biotecnología con la filosofía de “Respeto a la vida”. [Internet] 2020. [Citado el 14 de Julio 2021]. Disponible en: <https://bmeditores.mx/porcicultura/ctcbio-inc-empresa-lider-en-innovacion-de-biotecnologia-con-la-filosofia-de-respeto-a-la-vida/>
  - 18 Ávila E, Carmona J, Castañeda M, *et al.* Introducción a la zootecnia del pollo y la gallina. Primera edición. México: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2018.
  - 19 McClean T. Bacteriophages as a new drug. *Bacterio- phages as a new drug*. [Internet]. 2016 [Citado el 10 Julio de 2021]. Disponible en: <http://healingseekers.com/wp-content/themes/healin>.
  - 20 CTCBIO INC. Standard operating procedure. A method to examine the susceptibility of bacteria to our product. E.U.A.
  - 21 Centro para el control y la prevención de enfermedades. El pollo y la intoxicación por alimentos. [Internet] 2019. [Citado el 15 de Julio 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/chicken.html>

- 22 ICMSF. Microorganisms in foods 7. Microbial ecology of food commodities. España: Acribia; 2002.
- 23 Xiao X, Wang W, Zhang J, *et al.* Modeling the reduction and cross-contamination of *Salmonella* in poultry chilling process in China. Microorganisms. [Internet] 2019. [Citado el 2 de Agosto del 2021]. Disponible en: <https://doaj.org/article/6b72540f1a7945a395fc323359448a78>.
- 24 Wang J, Yan L, Lee J, *et al.* Evaluation of bacteriophage supplementation on growth performance, blood characteristics, relative organ weight, breast muscle characteristics and excreta microbial shedding in broilers. Asian-Australasian journal of animal sciences, 26(4), pp. 573–578. [Internet] 2013. [Citado el 14 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25049825/>
- 25 Atterbury R, Ortiz F, Harris A, *et al.* Bacteriophage therapy to reduce salmonella colonization of broiler chickens. Applied and environmental microbiology, 73(14), pp. 4543–4549. [Internet] 2007. [Citado el 14 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1932804/>
- 26 Castañeda M, Braña D, Rosario C. Calidad microbiológica de la carne de pollo. Libro técnico N. 09. México: SAGARPA; 2013.
- 27 Secretaria de salud. NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Dirección general de control sanitario de bienes y servicios. México. Publicado en el D.O.F. en mayo de 1995.
- 28 Efron B, Tibshirani R. An introduction to the bootstrap. [Internet] 1993. [Citado el 20 de Diciembre de 2021]. Disponible en: <https://www.hms.harvard.edu/bss/neuro/bornlab/nb204/statistics/bootstrap.pdf>.
- 29 Paquete estadístico R. R Core Team [2017]. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria.

- 30 Żbikowska K, Michalczyk M, Dolka B. The use of bacteriophages in the poultry industry. *Animals: an open access journal from MDPI*, 10(5), p. 872. [Internet] 2020. [Citado el 14 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2615/10/5/872>
- 31 Deitch K. Efficacy of bacteriophage treatment in reduction of *Salmonella* populations on poultry parts. [Internet] 2014. [Citado el 14 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://etd.auburn.edu/handle/10415/4395>
- 32 Hungaro H, Santos R, Dantas M, *et al.* Use of bacteriophages to reduce *Salmonella* in chicken skin in comparison with chemical agents. [Internet] 2013. [Citado el 14 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996913001373>
- 33 Gonçalves G, Donato T, Sampaio A, *et al.* Bacteriophage-induced reduction in *Salmonella* Enteritidis counts in the crop of broiler chickens undergoing preslaughter feed withdrawal. *Poultry Science*, 93 (1), pp. 216-220. [Internet] 2014. [Citado el 14 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24570442/>
- 34 Ornellas K, Mainieri I, Quinto I, *et al.* Bacteriophage use to control *Salmonella* biofilm on surfaces present in chicken slaughterhouses. *Poultry Science*, 96(9), pp. 3392–3398. [Internet] 2017. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28595324/>
- 35 Hsu F, Shieh Y, Sobsey M. Enteric bacteriophages as potential fecal indicators in ground beef and poultry meat. *Journal of food protection*, 65(1), pp. 93–99. [Internet] 2002. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11811158/>
- 36 Osorio J. Bacteriófagos: aspectos generales y aplicaciones clínicas. *Hechos microbiológicos*, 6 (1-2), pp. 36-51. [Internet] 2015. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://revistas.udea.edu.co/index.php/hm/article/view/335348>
- 37 González H, Meza G, Quintero C. Estimación de la vida útil de almacenamiento de carne de res y de cerdo con diferente contenido graso. *Revista Vitae*, 21(3), pp. 201–210. [Internet] 2014. [Citado el 15 de

- Septiembre de 2021]. Disponible en <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169833713005>
- 38 Dainty R, Mackey M. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. Society for applied bacteriology symposium series, 21, pp. 103S–14S. [Internet] 1992. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1502596/>
- 39 Russell M, Fletcher D, Cox A. The effect of temperature mishandling at various times during storage on detection of temperature abuse of fresh broiler chicken carcasses. Poultry Science, 75(2), pp. 261–264. [Internet] 1996. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8833381/>
- 40 Cox A, Richardson L, Cason J, *et al.* Comparison of neck skin excision and whole carcass rinse sampling methods for microbiological evaluation of broiler carcasses before and after immersion chilling. Journal of food protection, 73(5), pp. 976–980. [Internet] 2010. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20501052/>
- 41 Cason A, Berrang M, Smith D. Recovery of bacteria from broiler carcasses rinsed zero and twenty-four hours after immersion chilling. Poultry Science, 85 (2), pp. 333-336. [Internet] 2006. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16523635/>
- 42 Northcutt K, Smith D, Ingram K, *et al.* Microbiological impact of spray washing broiler carcasses using different chlorine concentrations and water temperatures. Poultry Science, 84(10), pp. 1648–1652. [Internet] 2005. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16335135/>
- 43 Medina-Saavedra T, Arroyo G, Herrera C, *et al.* Bacillus subtilis como probiótico en avicultura: aspectos relevantes en investigaciones recientes. Abanico Vet. (3):14–20. [Internet] 2017. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en:

[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-61322017000300014](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-61322017000300014)

- 44 Lau L, Sieo C, Tan S, *et al.* Efficacy of a bacteriophage isolated from chickens as a therapeutic agent for colibacillosis in broiler chickens. *Poultry Science*. 89 (12): 2589–96. [Internet] 2010. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21076096/>
- 45 Wernicki A, Nowaczek A, Urban-Chmiel R. Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry. *Virology journal*, 14(1). [Internet] 2017. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5602926/>
- 46 Kazi M, Annapure S. Bacteriophage biocontrol of foodborne pathogens. *Journal of food science and technology*, 53(3), pp. 1355–1362. [Internet] 2016. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27570260/>
- 47 Cox J, Pavic A. Advances in enteropathogen control in poultry production. *Journal of Applied Microbiology*. EUA. [Internet] 2010. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19702864/>
- 48 Cason A, Berrang M, Cox J, *et al.* Effect of prechill fecal contamination on numbers of bacteria recovered from broiler chicken carcasses before and after immersion chilling. *Journal of food protection*, 67 (9), pp. 1829-1833. [Internet] 2004. [Citado el 15 de Septiembre de 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15453571/>