

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE *Campylobacter* spp, *Escherichia coli*, Y *Salmonella* spp COMO SEGUIMIENTO A LOS PROGRAMAS DE REDUCCIÓN DE PATÓGENOS EN LAS ETAPAS DEL PROCESO DE SACRIFICIO DE AVES

**JULIETH PAOLA SUÁREZ RINCÓN
COD: 1098681871**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BASICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA
PAMPLONA NORTE DE SANTANDER
2017**

DETERMINACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE *Campylobacter* spp, *Escherichia coli*, Y *Salmonella* spp COMO SEGUIMIENTO A LOS PROGRAMAS DE REDUCCIÓN DE PATÓGENOS EN LAS ETAPAS DEL PROCESO DE SACRIFICIO DE AVES

**JULIETH PAOLA SUÁREZ RINCÓN
COD: 1098681871**

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar el título de:
Microbióloga**

**Asesor
CLAUDIA CLAVIJO OLMOS. Ph.D**

**Asesor externo
ELSA BEATRIZ GELVEZ AROCHA
Directora de Aseguramiento de la Calidad**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
PROGRAMA DE MICROBIOLOGÍA
PAMPLONA NORTE DE SANTANDER
2017**

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma Del Jurado

Firma Del Jurado

Pamplona, 2 de junio de 2017.

DEDICATORIA

Quiero dedicar este trabajo a Dios por permitirme tener la fuerza, la fé y la persistencia necesaria para haber cumplido esta etapa de mi vida, a mi mami Blanca Marina por haber sido mi motor, mi inspiración y mi consuelo en los momentos en que sentía que no iba a poder, siempre enseñándome que la constancia y el esfuerzo son el camino para lograr las metas, a mi papá Javier Suárez por haber sido mi soporte durante la carrera y por ayudarme en la etapa final de la misma y a mis hermanos Omar, LuzMa y Edivan por el apoyo.

AGRADECIMIENTOS

En primera instancia quiero agradecer a Dios porque me permitió ser lo que quería y cumplir a cabalidad con esta etapa de mi vida, permitiéndome transformar los momentos de debilidad en fuerza motora para salir bien en esta fase, teniendo presente el texto bíblico de Filipenses 4:13 "Todo lo puedo en cristo que me fortalece".

Quiero agradecer a mi directora de trabajo, Claudia Clavijo Olmos. Ph.D por brindarme su colaboración, sugerencias y su confianza durante este proceso.

A las Doctoras Elsa Gelvez y Patricia Luna por permitirme realizar mi práctica en este laboratorio, transmitiéndome sus conocimientos, confianza y apoyo necesario durante este tiempo, y facilitándome todos los recursos necesarios para la elaboración de este proyecto.

A mis profesores y compañeros de Universidad quienes fueron partícipes de una forma u otra a lo largo de mi carrera y que me permitieron una formación integral en mi vida, tanto académica como personal.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	12
1. OBJETIVOS	15
1.1 OBJETIVO GENERAL	15
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
2. JUSTIFICACIÓN	16
3. MARCO REFERENCIAL	18
3.1 MARCO LEGAL	18
3.1.1 Resolución 2690 de 2015	18
3.1.2 Resolución 0242 de 2013.	19
3.1.3 Decreto 2270 de 2012.	19
3.1.4 Decreto 60 de 2002	19
3.1.5 Decreto 1500 de 2007	19
3.1.6 NTC 3644-1 INCONTEC	20
3.1.7 NTC 3644-2 ICONTEC	20
3.1.8 NTC 5480 de 2007 ICONTEC	20
3.2 ANTECEDENTES	21
3.3 MARCO HISTÓRICO	23
3.3.1 Descripción de la empresa	23
3.3.2 Misión	24
3.3.3 Visión	24
3.3.4 Políticas de calidad	24
3.4 MARCO TEÓRICO	25
3.4.1 Higiene, Inspección y Control Alimentario, sistemas de calidad.	25
3.4.3 Sistema HACCP en la planta de beneficio de la avícola	27
3.4.4 Programa de reducción de patógenos	29
3.4.5 Proceso de sacrificio de aves en la planta avícola.	29
3.4.6 Flujograma del proceso de beneficio.	33
3.4.7 Medidas a tener en cuenta durante el sacrificio de aves.	34
3.4.8 Principales líneas productoras de carne	36
3.4.8.1 ROSS	37
3.4.8.2 COBB	37
3.4.9 Microbiota característica de la carne de aves	37
3.4.9.1 Familia Enterobacteriaceae	38
3.4.9.2 <i>Campylobacter</i> spp	39
3.4.9.3 <i>Escherichia coli</i>	40
3.4.9.4 <i>Salmonella</i> spp	41
3.4.10 Agentes desinfectantes	45

4. METODOLOGÍA	46
4.1 ÁREAS DE ESTUDIO	46
4.2 PRUEBAS PRELIMINARES.	46
4.3 TIPO DE MUESTRAS	46
4.4 NUMERO DE MUESTRAS	47
4.5 FRECUENCIA DEL MUESTREO	47
4.6 MUESTRAS POR MÉTODO DE ENJUAGUE	47
4.7 MÉTODOS DE AISLAMIENTO Y PARÁMETROS	47
4.8 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	48
4.9. REPRESENTACIÓN ESTADÍSTICA	53
5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	54
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	55
6.1 TRATAMIENTO DE DATOS PARA <i>Campylobacter</i> spp	55
6.2. TRATAMIENTO DE DATOS PARA <i>Escherichia coli</i> .	59
6.3 TRATAMIENTOS DE DATOS PARA <i>Salmonella</i> spp.	62
7. CONCLUSIONES	70
8. RECOMENDACIONES	71
BIBLIOGRAFÍA	72
ANEXOS	77

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Cadena productiva de la avícola.	24
Figura 2. Etapa recepción de la planta de beneficio.	30
Figura 3. Etapa de aturdimiento de la planta de beneficio.	30
Figura 4. Etapa desangre de la planta de beneficio.	30
Figura 5. Etapa escaldado de la planta de beneficio.	31
Figura 6. Etapa desplumado de la planta de beneficio.	31
Figura 7. Etapa eviscerado de la planta de beneficio.	31
Figura 8. Lavado en tanque de inmersión de la planta de beneficio.	32
Figura 9. Etapa pre-chiller y chiller 1 de la planta de beneficio.	32
Figura 10. Etapa chiller 2 de la planta de beneficio.	32
Figura 11. Aspersión del CECURE en la planta de beneficio.	33
Figura 12. Principales Razas de aves utilizadas en la planta.	37
Figura 13. Vías de transmisión de <i>Salmonella</i> spp.	44
Figura 14. Siembra en Agar Campyfood de BIOMERIEUX (CFA).	48
Figura 15. Técnica de siembra en placas 3M Petrifilm™.	49
Figura 16. Enjuague y diluciones decimales seriadas en agua peptona tamponada ISO de 10 ⁰ a 10 ⁻³ , para pre-enriquecimiento no selectivo.	50
Figura 17. Diluciones decimales seriadas para pre-enriquecimiento no selectivo.	51
Figura 18. Enriquecimiento en caldo Rappaport-Vassiliadis modificado (MSRV).	51
Figura 19. Crecimiento presuntivo de <i>Salmonella</i> spp.	52
Figura 20. Aglutinación en lamina de colonias de <i>Salmonella</i> (anticuerpos Poli Al + Vi).	52
Figura 21. Detección molecular por bioluminiscencia 3M™	53

LISTA DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1. Comportamiento promedio de <i>Campylobacter</i> spp en cada una de las etapas del proceso.	57
Gráfica 2. Comportamiento de la prevalencia del promedio de <i>Campylobacter</i> spp expresado en porcentaje.	58
Gráfica 3. Comportamiento promedio de la prevalencia de <i>Escherichia coli</i> durante las etapas del proceso.	61
Gráfica 4. Comportamiento de la prevalencia del promedio de <i>E. coli</i> expresado en porcentaje.	61
Gráfica 5. Comportamiento promedio de la prevalencia de <i>Salmonella</i> spp durante las etapas del proceso.	64
Gráfica 6. Comportamiento de <i>Salmonella</i> spp expresado en porcentaje.	65
Gráfica 7. Ausencia o presencia de <i>Salmonella</i> spp expresado en porcentaje.	65
Gráfica 8. Comparativo de las etapas del proceso con cada microorganismo de estudio.	66
Gráfica 9. Perfil del estado inicial del pollo en la etapa escaldadora para <i>Campylobacter</i> spp.	68
Gráfica 10. Perfil del estado inicial del pollo en la etapa escaldadora para <i>Escherichia coli</i> .	68
Gráfica 11. Perfil del estado inicial del pollo en la etapa de recepción para <i>Salmonella</i> spp.	69

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Microorganismos y objetivo según la Resolución 2690 de 2015.	18
Tabla 2. Requisitos microbiológicos del pollo beneficiado, pollo en canal.	20
Tabla 3. Microorganismos de interés y objetivo de la avícola.	29
Tabla 4. Localizaciones de infección por las enterobacterias más frecuentes, enumeradas por orden de prevalencia.	38
Tabla 5. Número actual de serovariedades de <i>Salmonella spp.</i>	43
Tabla 6. Distribución y número de muestras tomadas para cada etapa del proceso de beneficio.	47
Tabla 7. Diluciones de muestras tomadas para cada etapa del proceso de beneficio.	49
Tabla 8. Estándares de cumplimiento para <i>E.coli</i> según resolución 4287 de 2007.	50
Tabla 9. Resultado de la inferencia estadística por etapas para los recuentos en Log10 del crecimiento de <i>Campylobacter spp.</i>	55
Tabla 10. Análisis de varianza de un solo factor (etapas del proceso) para <i>Campylobacter spp</i>	56
Tabla 11. Resultados de la aplicación de la prueba de Tuckey para <i>Campylobacter spp.</i>	57
Tabla 12. Diferencia entre parejas de medias de Log10 UFC/mL para <i>Campylobacter spp.</i>	57
Tabla 13. Resultado de la inferencia estadística por etapa para los recuentos en Log10 del crecimiento de <i>Escherichia coli.</i>	59
Tabla 14. Análisis de varianza de un solo factor (etapas del proceso) para <i>Escherichia coli</i>	59
Tabla 15. Resultados de la aplicación de la prueba de Tuckey para <i>Escherichia coli.</i>	60
Tabla 16. Diferencia entre parejas de medias de Log10 UFC/mL para <i>Escherichia coli.</i>	60
Tabla 17. Resultado de la inferencia estadística por etapas para los recuentos en Log10 del crecimiento de <i>Salmonella spp.</i>	62
Tabla 18. Análisis de varianza de un solo factor (Etapas del proceso) para <i>Salmonella spp.</i>	63
Tabla 19. Resultados de la aplicación de la prueba de Tuckey para <i>Salmonella spp.</i>	64
Tabla 20. Diferencia entre parejas de medias de Log10 UFC/mL para <i>Salmonella spp</i>	64

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Resultado por etapa de la prevalencia de <i>Campylobacter</i> spp.	77
Anexo 2. Resultado por etapa de la prevalencia de <i>Escherichia coli</i>	80
Anexo 3. Resultado por etapa de la prevalencia de <i>Salmonella</i> spp.	83
Anexo 4. Resultado del estado inicial en la etapa escaldadora en análisis de las granjas para <i>Campylobacter</i> spp.	88
Anexo 5. Resultado del estado inicial en la etapa escaldadora en análisis de las granjas para <i>Escherichia coli</i> .	89
Anexo 6. Resultado del estado inicial en la etapa recepción en análisis de las granjas para <i>Campylobacter</i> spp <i>Salmonella</i> spp.	90
Anexo 7: Tablas de NMP utilizadas en los recuentos para <i>Salmonella</i> spp.	91
Anexo 8. Tabla de valores para la prueba de Tuckey.	93
ANEXO 9. Análisis de peligros y criterio de decisión de PCC para pollo entero, presas, filetes marinados, sin marinar, y menudencias- refrigerados.	96
Anexo 10. Hoja de Bioseguridad Desinfectante CECURE	97
Anexo 11. Montaje de pruebas y análisis complementarios realizados en el laboratorio en horarios de trabajo.	98

INTRODUCCIÓN

La producción de carne en la industria avícola colombiana pasa por uno de sus mejores momentos y las empresas se la juegan con millonarias inversiones en distintas regiones del país. En la que la producción de carne de pollo alcanzó un nuevo récord el año pasado con 12.800 millones de unidades. A pesar de factores adversos, esta actividad logró un crecimiento de 4,4% al cierre del 2016 y para este proyecta un alza superior a 5%. Estas cifras ponen en evidencia un incremento en el consumo per cápita de esta proteína. El año pasado cada colombiano consumió en promedio 31,5 kilos de carne de pollo y la proyección es que para 2017 esté alrededor de 32 kilos¹.

Es por esto que es importante determinar qué tan adecuado se lleva a cabo el proceso de beneficio de aves, así como la incidencia de microorganismos en estas, en el que la carne es el principal vehículo de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs). En los que los agentes infecciosos son las principales causas potenciales de pérdida en las industrias avícolas en todo el mundo, causando problemas que van desde la enfermedad insidiosa crónica que puede conducir a pérdidas de producción, a los brotes devastadores que causan gran morbilidad y mortalidad. Con medidas de contención en la inactivación de patógenos en las canales y productos avícolas, permitiendo una mayor libertad de movimiento y comercio de productos de aves de corral sin poner en peligro la salud humana².

Siendo así necesario desarrollar y efectuar programas de reducción de patógenos que permitan el procesamiento de alimentos inocuos al final de la cadena de proceso, como el sistema HACCP por sus siglas en inglés (Análisis de peligros y puntos críticos de control), que permiten procesar los alimentos bajo las mejores condiciones (sanitarias) para evitar que representen un riesgo para los consumidores, con un ámbito prioritario en la cadena de producción avícola de la mejora en la manera de procesar y manejar el alimento.

De igual manera la implementación de métodos como el control microbiológico, permiten verificar la efectividad de las etapas que constituyen el proceso de beneficio de aves, sobre la reducción de la contaminación por patógenos, en este caso no solo proveniente de la granja, sino las que se generan durante el proceso mismo, lo que se ve manifestado directamente en la calidad del producto. En el que los métodos implementados en este estudio están básicamente encaminados a la

¹ EL SITIO AVÍCOLA Análisis De la industria avícola colombiana que vuela alto [en línea] disponible en: <http://www.elsitioavicola.com/poultrynews/32152/analisis-de-la-industria-avacola-colombiana-que-vuela-alto/>

² BUCKOWA Roman, BINGHAMB John, DAGLASB Susie, LOWTHERB Sue, AMOS-RITCHIEB Rachel, MIDDLETONB Deborah High pressure inactivation of selected avian viral pathogens in chicken meat homogenate . En: Food Control 2017 pp. 215-222

detección de los microorganismos patógenos (*Campylobacter* spp y *Salmonella* spp) como el indicador (*E.coli*) de baja higiene y bajo nivel en el control y aseguramiento de la calidad.

Es así que las enfermedades transmitidas por la carne son de importancia para la salud pública, a la par de los cambios sufridos por los sistemas de producción y elaboración que han hecho que el problema continúe, quedando bien ilustrado en años recientes con estudios de vigilancia en seres humanos, relativos a patógenos transmitidos por la carne. Con un enfoque contemporáneo sobre la higiene de la misma basado en el análisis de riesgos que requiere que las medidas higiénicas se apliquen a los puntos de la cadena alimentaria cuando tengan mayor valor para reducir los riesgos alimentarios para los consumidores³.

La forma de contaminación de la carne se da por la microbiota que llega hasta el interior del cuerpo y los intestinos de las aves y bacterias como *Campylobacter* spp. y *Salmonella* spp. Pueden vivir en el intestino de aves sanas, y así consiguen causar enfermedades en los seres humanos dependiendo de su patogenicidad y del número y concentración de bacterias en el producto. La suma de estos factores determinará si el consumidor corre o no algún riesgo en el momento del consumo. Por lo que cuanto más limpias lleguen las aves al lugar del sacrificio, menor será el número de bacterias presentes en sus canales durante el mismo. En las granjas, es difícil lograr un recuento bacteriano bajo la piel y las plumas de las aves, por lo que debería hacerse hincapié en la higiene y desinfección en la cadena de sacrificio⁴.

Las enfermedades de transmisión alimentaria pueden ocurrir cuando no se controla adecuadamente los peligros biológicos en los alimentos. El sistema HACCP exige el entendimiento de las clases de peligros biológicos importantes para un alimento específico, en el que las características de los microorganismos tienen que ser examinadas para determinar los controles apropiados⁵.

Es por esto que algunas medidas pueden reflejarse en la aplicación específica basadas en la ciencia y en la evaluación de riesgos, prestando más atención a la prevención y control de la contaminación durante todos los aspectos de la producción de la carne y su ulterior elaboración.⁶

³ FAO, ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA Aves de corral y productos avícolas: riesgos para la salud humana En: REVISIÓN DEL DESARROLLO AVÍCOLA 2013 pp. 14-16

⁴ *Ibíd.*

⁵ AMÉZQUITA, Alejandro; ESTRADA, Carolina; GONZALEZ, Sonia HACCP - Un enfoque sistematico para la inocuidad alimentaria Estados Unidos: Grocery Manufacturers Association Washington, D.C 2008

⁶ ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO) Código de prácticas de higiene para la carne [en línea] disponible en: www.fao.org/input/download/standards/10196/CXP_058e.pdf

Para cuantificar los riesgos de inocuidad alimentaria a lo largo de la cadena de producción y comercialización, es importante saber cómo, dónde y cuándo se produce la contaminación por microorganismos. Una vez que conocemos la respuesta a estas preguntas, es posible introducir medidas de reducción de riesgos. La instalación de sacrificio debe estar dividida en al menos tres secciones separadas: una zona para las aves vivas, una zona de sacrificio, incluido el desplume, y una zona de elaboración, que da comienzo con la evisceración. Para reducir el riesgo de multiplicación de patógenos en la carne y las canales de las aves de corral, deberán refrigerarse o consumirse inmediatamente después del sacrificio⁷.

Es así que la incidencia de estos microorganismos se determinó por medio de las etapas de estudio, con su cuantificación, lo que permitió verificar la efectividad de las medidas de prevención y de control de los riesgos implementados en la planta hacia la revisión del proceso; por lo que se realizaron muestreos de pollos al azar provenientes de diferentes granjas evaluando las áreas de la cadena de procesamiento (recepción, escaldadora, desplumadora, eviscerado, salida chiller y post chiller) por análisis microbiológicos, en los que el aislamiento de *Campylobacter* spp, *Escherichia coli*, y *Salmonella* spp, se hizo utilizando diferentes técnicas junto con medios de cultivos selectivos, diferenciales, así como el uso de herramientas serológicas y moleculares, como para la detección de *Salmonella* spp por técnicas de serotificación y por BIOLUMINISCENCIA 3M™, en el que se permitió recopilar de manera sistemática la información de los puntos en donde se presentaba mayor susceptibilidad de contaminación por dichos microorganismos, verificando así si la eficacia del proceso de sacrificio de las aves se estaba llevando efectivamente, con la reducción de los microorganismos y de estos riesgos que contribuyen al mejoramiento continuo en la calidad del producto, comprobando si los programas de reducción de patógenos están siendo efectivos.

Es por esto que en la empresa avícola se preocupan por adaptar medidas en el beneficio de las aves junto con sus derivados, para que cumplan con los parámetros microbiológicos determinados según cada norma (Ver marco legal). De la mano en la ejecución de tanto las BPH (Buenas Prácticas de Higiene) como BPM (Buenas Prácticas de Manufactura), que con el plan HACCP se ha convertido en una herramienta primordial para el aseguramiento de la inocuidad de la carne de pollo, garantizando que los productos se fabrican en condiciones sanitarias adecuadas y se disminuyen los riesgos de producción; asegurando parámetros de calidad en todas las etapas por la que pasan las aves.

⁷ FAO, ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA Op. Cit.

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar y determinar cuantitativamente la presencia de *Campylobacter* spp, *Escherichia coli*, y *Salmonella* spp en las etapas del proceso de sacrificio de aves como control a los programas de reducción de patógenos en una planta de beneficio avícola.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar a *Campylobacter* spp, *Escherichia coli* por medio de recuento en placa y petrifilm™ en cinco etapas del proceso de sacrificio de aves y *Salmonella* spp en seis etapas del proceso de sacrificio de aves, por medio del método de número más probable miniaturizado (mMPN).
- Identificar el área de proceso en el cual se produce un mayor nivel de contaminación con estos microorganismos.
- Analizar los resultados obtenidos en cada uno de los muestreos, de acuerdo al comportamiento de los microorganismos a través de cada una de las etapas en los procesos de tratamiento que se les realiza a las aves.
- Establecer la calidad del proceso de beneficio de las aves, mediante la comparación de los resultados microbiológicos obtenidos con los estándares establecidos en la resolución 4287 de 2007 y 0242 de 2013.

2. JUSTIFICACIÓN

La salud de los consumidores de carne de pollo es una garantía que día a día se enfrentan las industrias avícolas en la que debe ser primordial la inocuidad en sus productos, con refuerzos en las buenas prácticas de higiene y bioseguridad, como BPV desde las granjas, incubadoras, transporte y plantas de beneficio, con una mira objetiva en las etapas principales de recepción, escaldado, desplumado, eviscerado y etapas de chiller's, para así cumplir con la normatividad y los requisitos exigidos por el invima, de la mano de permanentes capacitaciones hacia los trabajadores y manipuladores que con una tarea conjunta de productores y entidades reguladoras fortalecen cada día hacia cambios positivos en la cadena productiva.

Colombia, a través del tiempo se ha caracterizado por tener una producción avícola responsable, con empresas verdaderamente comprometidas en el cumplimiento de todas las normas necesarias para evitar, o por lo menos limitar el posible ingreso de microorganismos patógenos a los planteles productivos, y conscientes de la enorme responsabilidad que implica producir bajo una permanente presión de mercado, generalmente en zonas de alta población avícola y con toda una cadena que aunque bien organizada, es altamente vulnerable en cualquiera de sus eslabones, a través de los cuales las diferentes entidades patológicas puede ingresar, alterando en mayor o en menor grado el ciclo productivo y poniendo en riesgo la bioseguridad de la granja, el municipio, la región y finalmente la del todo el país⁸.

El Programa de Reducción de Patógenos que se realiza en la Planta de Beneficio de la compañía ha permitido cuantificar los riesgos a lo largo de la cadena de producción, en los que es importante saber dónde y cuándo se produce la contaminación por microorganismos; la implementación de sistemas de monitoreo en cada una de estas etapas de colgado son indispensables para el seguimiento de microorganismos como *Salmonella* spp y *Campylobacter* spp. Que permiten evaluar el desempeño del sistema de autocontrol (HACCP) de la compañía. Junto con un plan de verificación de *E. Coli* como agente indicador de la calidad higiénica del proceso de producción en puntos donde hay un alto riesgo de contaminación cruzada y que pueden llegar a ser consideradas como puntos críticos.

La carga bacteriana del producto final estará relacionada a que tan inocuo se presenta este al consumidor y la carga bacteriana inicial del pollo permitirá determinar cómo varía su concentración a lo largo de las etapas de producción, proporcionando información relevante, encaminadas a la implementación de

⁸ BOHORQUEZ ARÉVALO, Victor David Perspectiva de la producción avícola en Colombia Bogota 2014

medidas con la finalidad de minimizar o reducir dicha carga microbiana existente, por lo que la determinación y cuantificación de estos contaminantes microbianos (*Campylobacter* spp. *E. coli* y *Salmonella* spp) desde el ingreso del pollo vivo y durante el proceso sacrificio es imprescindible para garantizar la calidad microbiológica de dicho producto, buscando demostrar la importancia y eficacia de los programas de reducción de patógenos con garantía en una alta calidad de la carne de pollo, junto con sus derivados.

3. MARCO REFERENCIAL

3.1 MARCO LEGAL

Los sistemas de producción, procesamiento, almacenamiento, distribución y venta se monitorean con programas hechos a la medida que evidencian todos los requisitos de higiene e inocuidad alimentaria. Por lo que las industrias tienen el compromiso primordial de documentar y efectuar tales programas, con supervisión y verificación por parte de la autoridad regulatoria competente. De esta manera la empresa avícola cuenta con la normatividad vigente documentada, haciendo obligatoria la aplicación de fichas técnicas y estándares de operación con disposiciones legales en todo lo que concierna a cada una de las áreas de la totalidad de los procesos, con las resoluciones del Ministerio de Salud y Protección Social como:

3.1.1 Resolución 2690 de 2015. Instaura las directrices para la formulación del Programa de verificación Microbiológica de Inspección, Vigilancia y Control de la Carne y sus derivados comestibles destinados para el consumo humano; con importancia en artículos como el 4 con la definición de los microorganismos, en los que debe incluirse los microorganismos indicadores o patógenos con la siguiente tabla:

Tabla 1. Microorganismos y objetivo según la Resolución 2690 de 2015.

Microorganismo	Objetivo
1. <i>E. coli</i> genérico.	Verificación de Control de Procesos: <i>E. coli</i> genérico con el objeto de evaluar la eficacia de la limpieza y desinfección y como criterio de verificación del control de procesos.
2. <i>Salmonella</i> spp.	Cumplimiento de Estándar de Desempeño.
3. <i>Escherichia coli</i> 0157:H7	Control de microorganismos patógenos.
4. <i>Escherichia coli</i> no 0157 (STEC) productores de toxina shiga.	Control de microorganismos patógenos.
5. <i>Campylobacter</i> spp.	Cumplimiento de Estándar de Desempeño.

Fuente: MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL Resolución Número 2690 De 2015 (24 Julio 2015) Por la cual se establecen las directrices para la formulación del Programa de Verificación Microbiológica del Sistema Oficial de Inspección, Vigilancia y Control de la Carne y Productos Cárnicos Comestibles [en línea] disponible en:

http://biblioteca.saludcapital.gov.co/img_upload/03d591f205ab80e521292987c313699c/resolucion-2690-de-2015.pdf

De igual manera se establecerá los procedimientos de verificación para el estándar de desempeño y el criterio de control de proceso como:

1. El propósito del muestreo.
2. Técnicas de muestreo, metodología y frecuencia de muestreo.
3. Requerimientos de muestreo.
4. Análisis de muestras.
5. Registros de los resultados.
6. Criterios para la evaluación de resultados de las pruebas.

3.1.2 Resolución 0242 de 2013. La cual establece el reglamento técnico a través del cual se señalan los requisitos sanitarios que deben cumplir las plantas de beneficio de aves de corral en lo concierne a desprese, almacenamiento, comercialización, expendio, importación o exportación y transporte de la carne; destinados para el consumo humano, con el fin de proteger la vida, salud y prevenir las practicas que puedan inducir a error a los consumidores. Con importancia en los artículos 13, 14 y 15 que hace referencia al personal manipulador, con requisitos de buen estado de salud con reconocimiento medico, capacitaciones continuas y practicas higiénicas como medidas de protección.

El artículo 17 hace hincapié en cada una de las áreas que debe tener la planta en la recepción y procesamiento de las aves, así como las etapas del sacrificio, con el cumplimiento de los Estándares de Ejecución Sanitaria de acuerdo con las operaciones que se realicen en las mismas, con procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento, (POES) contemplados en los artículos 27, 28, 29, 30, 31, 32 y 33. Así como lo correspondiente al sistema HACCP con las indicaciones de los Artículos 34, 35, 36 y 37.

3.1.3 Decreto 2270 de 2012. Las disposiciones en este decreto, tienen por objeto actualizar el Sistema Oficial de Inspección, Vigilancia, plan de muestreo, verificación microbiológica y Control de la Carne y Productos Cárnicos destinados para el consumo humano en todo el territorio nacional, como en las plantas de beneficio establecido en el Decreto 1500 de 2007, modificado por los Decretos 2965 de 2008, 2380, 4131, 4974 de 2009, 3961 de 2011 y 917 de 2012. Así como el cumplimiento del sistema HACCP señalado en el artículo 26 del presente Decreto.

3.1.4 Decreto 60 de 2002 Tiene por objeto promover la aplicación del Sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Crítico HACCP, como Sistema o Método de Aseguramiento de la Inocuidad de los Alimentos y establecer el procedimiento de certificación al respecto.

3.1.5 Decreto 1500 de 2007 Establece el reglamento técnico a través del cual se crea el Sistema Oficial de Inspección, Vigilancia y Control de la Carne, Productos Cárnicos y sus derivados, destinados para el Consumo Humano y los requisitos

sanitarios y de inocuidad que se deben cumplir en su producción primaria, beneficio, desposte, desprese, procesamiento, almacenamiento, transporte, comercialización, expendio, importación o exportación. Es decir, indica todas las medidas que se deben implementar para garantizar la inocuidad de las prácticas de beneficio de animales para consumo humano, como la vida útil de la carne y control de patógenos.⁹

3.1.6 NTC 3644-1 ICONTEC Esta norma establece las mínimas prácticas de calidad que se deben cumplir durante las operaciones de captura, enjaulado, transporte y faenado de pollo. Haciendo hincapié en el mantenimiento de las temperaturas de refrigeración durante el desprese, y de refrigeración o congelación durante el empaque, transporte y distribución, el cual debe cumplir con los requisitos establecidos en la NTC 3644.

3.1.7 NTC 3644-2 ICONTEC Determina los requisitos microbiológicos que se deben cumplir y los métodos de ensayo a los cuales debe someterse el pollo beneficiado para Consumo humano.

Tabla 2. Requisitos microbiológicos del pollo beneficiado, pollo en canal.

Microorganismos	N	m	M	c
NMP de coliformes fecales UFC/g	5	100	1100	1
Recuento de esporas <i>Clostridium</i> sulfito reductor, UFC/g	5	100	1000	1
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva, UFC/g	5	100	500	1
Detección de <i>Salmonella</i> /25 g	5	0	-	0
Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> /25g*	5	0	-	0

Fuente: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIONES NTC 3644-2 Industrias alimentarias. Pollo beneficiado Bogotá: ICONTEC 1998 [en línea] disponible en: <http://www.analisisambiental.com.co/wp-content/uploads/2014/02/NTC-3644-2.pdf>

3.1.8 NTC 5480 de 2007 ICONTEC Limpieza y desinfección de plantas y equipos utilizados en la industria cárnica y avícola, establece los requisitos de limpieza y desinfección (LYD) que deben cumplir en instalaciones, equipos, utensilios y el personal con el fin de obtener la inocuidad del producto final. Esta norma técnica sirve como marco de referencia en el estudio y análisis del proceso de manufactura

⁹ MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL Decreto 1500 de 2007 (mayo 4) por el cual se establece el reglamento técnico a través del cual se crea el Sistema Oficial de Inspección, Vigilancia y Control de la Carne, Productos Cárnicos Comestibles y Derivados Cárnicos, destinados para el Consumo Humano y los requisitos sanitarios y de inocuidad que se deben cumplir en su producción primaria, beneficio, desposte, desprese, procesamiento, almacenamiento, transporte, comercialización, expendio, importación o exportación. [en línea] disponible en: https://www.invima.gov.co/images/stories/aliamentos/Decreto1500_2007.pdf

de alimentos cárnicos y establecer la idoneidad del proceso en relación a las normas colombianas y así asegurar la calidad.

3.2 ANTECEDENTES

El pollo es un producto industrializado influyente en los índices de enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial. Los estudios de prevalencia son fundamentales en el desarrollo de la industria porque evalúan la calidad del procesamiento de estos productos y el riesgo que un mal proceso puede implicar para los consumidores¹⁰.

La salmonelosis y la campilobacteriosis son algunas de las enfermedades transmitidas por los alimentos más frecuentemente reportados en todo el mundo. Si bien existen numerosas vías de transmisión posibles, la carne de pollo comercial ha sido identificado como uno de los vehículos alimentarios más importantes para estos organismos¹¹.

Un estudio en el 2016 determinó la prevalencia y los factores de riesgos asociados a *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. y *Listeria monocytogenes* en todos los eslabones de producción de pollos de engorde en dos empresas integradoras avícolas colombianas (EI-I y EI-II). En la EI-I, se aislaron *Campylobacter* spp., y *Salmonella* spp., del 10 % y el 4,4 % de las muestras, y el serotipo predominante de esta última fue *S. Heidelberg*. Se encontró *Salmonella* spp., en 6 % de las muestras de manos y materia fecal de los trabajadores, y *S. Saphra* fue el serotipo más común. En la EI-II, la prevalencia de *Campylobacter* spp., y *Salmonella* spp., en muestras de animales fue del 7 % y el 17 %, respectivamente. No se detectó *L. monocytogenes*. Este estudio evidenció la presencia de trabajadores/manipuladores portadores de los patógenos y determinó, que “la falta de reconocimiento médico de los empleados en el último año” constituye un posible factor de riesgo para la portación de *Salmonella* spp.

En el 2015 un estudio permitió investigar la prevalencia de *Campylobacter* spp y *Salmonella* spp en canales de pollos, en el estado de Río de Janeiro, Brasil, en el que se recogieron 60 muestras de 6 plantas de beneficio durante un período de 6 meses. Encontrándose un 45% de muestras positivas en las canales del pollo para *Campylobacter* spp, incluyendo 44 aislamientos (53,66%) de *Campylobacter jejuni* y 38 (46,34%) de *Campylobacter coli*. La identificación de todas las cepas se confirmó mediante PCR. *Salmonella* se aisló a partir de 60 canales de pollo por PCR en el que se detectó en un (8,33%).

¹⁰ RAMIREZ MORETA, Willington David Prevalencia y cuantificación de *Salmonella* spp y *Escherichia coli* en carne de pollo a la venta en Tegucigalpa Zamorano, Honduras 2015

¹¹ OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD *Campylobacter* spp y *Salmonella* spp [en línea] disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/es/>

De igual manera el 2014 se realizó un estudio con el objetivo de medir cuantitativamente y cualitativamente las concentraciones de *Campylobacter* spp y *Escherichia coli* en las canales de pollos. Se tomaron muestras a lo largo de la cadena de procesamiento, en puntos como antes de escaldadora, después de escaldadora, antes y después de enfriamiento, después del empaque y de intestino ciego individual. La prevalencia global de *Campylobacter* después del envasado fue del 83% con una concentración media de 0,8 log₁₀ CFU/mL. Los puntos de procesamiento de escaldado y enfriamiento presento reducciones medias significativas de ambos microorganismos (*Campylobacter* spp (1,8 y 2,9 log₁₀ CFU/canal) y *E. coli* (1,3 y 2,5 log₁₀ CFU/canal). La concentración de *E. coli* y *Campylobacter* spp se correlacionó significativamente a lo largo de transformación que indican que *E. coli* puede ser un organismo indicador útil para reducciones en la concentración de *Campylobacter* spp, así como efectuar prácticas adecuadas de en el proceso pueden conducir a una reducción significativa de la concentración de *Campylobacter* spp en las canales.

También un estudio en el 2012 evaluó el estado higiénico de las aves en las diferentes operaciones de beneficio, en el que se estimula a la industria avícola para mejorar el control de contaminación por *Campylobacter* spp. y para *Escherichia coli* como un indicador potencial de las canales contaminadas con *Campylobacter* spp. El impacto de establecer un objetivo de higiene del proceso basado en *E. coli* cuenta en la reducción de la frecuencia de canales contaminadas con *Campylobacter* spp a nivel de ≥ 3 log₁₀ CFU/g. Casi la mitad (48,9% (46/94) de los canales con *Campylobacter* spp. En tal escenario, el número total de canales positivas con *Campylobacter* spp podría reducir de 40,6% a 12,5%; Además, el 80,6% (25/31) de los canales contaminados con *Campylobacter* de ≥ 3 log₁₀ CFU/g podría ser eliminado. Los resultados de este estudio revelaron que un objetivo de higiene basado en el recuento *E. coli* podría ser utilizado como una herramienta sanitaria indirecta para reducir el nivel de contaminación de las canales de pollo por *Campylobacter* spp en la etapa postchiller.

Otro estudio en el 2001 sobre la microbiología de pollos evaluó un total de 97 aves vivas de tres granjas seleccionadas y 87 canales de pollo de dos supermercados, almacenados en frío. *Campylobacter* spp se aisló en un (14,4%) del intestino de las aves vivas en las tres granjas. En los pollos congeladas ninguna muestra fue positiva para *Campylobacter* spp. *Salmonella* spp. fue aislada a partir de contenido de los intestinos en un 7,2% y de las canales en un 6,8%. De igual manera, se aisló *Shigella* spp en un 6,9% de las muestras de pollo importadas de la cámara frigorífica. En *Escherichia coli* se identificaron 12 serovariedades con un total de 21 muestras positivas. En el que concluyen que el pollo importado y el producido localmente es una fuente potencial de microorganismos enteropatógenos con múltiples resistentes a antibióticos. Y se discuten medidas para mejorar la calidad microbiana del mismo.

Cabe resaltar otros estudios realizados que se han hecho al respecto, determinando la importancia de evaluar la prevalencia de *Escherichia coli*, *Salmonella spp* Y *Campylobacter jejuni* en las diferentes etapas del proceso de beneficio de aves en el que el llevar cabo este tipo de estudios, sirven como una herramienta para determinar el índice de contaminación en cada uno de los procesos finalizando con un pollo de calidad¹².

3.3 MARCO HISTÓRICO

3.3.1 Descripción de la empresa En marzo de 1.969 se constituye la sociedad comercial Avidesa Ltda., siendo Distribuidora Cosandi Ltda., su principal socio, como distribuidora de alimentos concentrados para todo tipo de animales. Algunos años más tarde, Avidesa Ltda., inicia una producción incipiente de pollo de engorde con un proceso artesanal que después se industrializa en una planta de proceso en el año de 1979 conocida como PROAVESAN. Su marca original "Mac Pollo su pollo rico" se remonta al año de 1.976, cambiada a "AVIDESA MAC POLLO S.A" en 1.982, cuando se abandona la distribución de concentrados y se focaliza en la producción, procesamiento y distribución de carne de pollo y cambia la propiedad accionaria a los socios actuales.

Y es desde ese entonces que se ha consolidado como una empresa líder en la industria avícola y agrícola nacional, focalizada en cambios tecnológicos con los cuales se optimiza y se controla la producción y la calidad de cada uno de sus productos, con constantes mejoras para un mercado más racional, logrando consolidarse como la empresa número uno en todas sus actividades industriales y comerciales que contemplan procesos de importación y exportación.

Durante este periodo, se pasó de 500 pollos diarios en su inicio a 142.000 hoy, contando con última tecnología de proceso en la planta de Beneficio, garantizando un pollo libre de contaminación y altos índices de calidad, con etapas como evisceración del 100%, desprese automático en corte anatómico y con sistema de enfriamiento IQF (Congelación rápida individual), además una maquinaria, infraestructura y personal capacitado; permitiendo una integración vertical que incluye desde el procesamiento del alimento para las aves hasta la comercialización directa de productos, con una estrategia integral donde cada uno de los eslabones de la cadena productiva es minuciosamente controlado.

¹² ECHEVERRÍA MACHACADO, Sindy Marcela Prevalencia de *Escherichia coli*, *Salmonella spp* Y *Campylobacter jejuni* Floridablanca: 2013

Figura 1. Cadena productiva de la avícola.



Fuente: Departamento de Gestión Humana.

3.3.2 Misión. Satisfacer necesidades nutricionales de los consumidores con la mejor calidad, servicio, variedad y precio, de manera eficiente y rentable, comprometidos con el bienestar y el desarrollo de nuestra gente, con responsabilidad con la comunidad y el medio ambiente

3.3.3 Visión. Estar siempre en la alimentación de la familia colombiana. Para lo cual deben:

- Mantener crecimiento sostenible de participación en el mercado y presencia internacional.
- Asegurar la lealtad de nuestros clientes a través de la calidad del producto, de la innovación y de la excelencia del servicio.
- Tener la mejor productividad optimizando costos con parámetros internacionales.
- Trabajar por procesos articulados, ágiles, eficientes y flexibles, soportados en un sistema de información confiable y completa.
- Mantener liderazgo tecnológico
- Atraer, desarrollar y mantener el mejor talento humano.

3.3.4 Políticas de calidad

- Elaborar productos nutritivos de alta calidad, inocuos y competitivos que satisfagan íntegramente las necesidades del cliente.
- Garantizar que los productos elaborados en la empresa cumplan con los parámetros microbiológicos establecidos para productos avícolas y derivados.
- Manejar el producto terminado de manera concertada con las distribuidoras, los puntos de venta y el cliente, estableciendo parámetros de control de calidad que aseguren el mantenimiento de la cadena de frío y la inocuidad del producto

durante el transporte, almacenamiento y por lo tanto le brinde satisfacción al cliente.

- Realizar a cabalidad las adecuaciones locativas y tecnológicas requeridas en las buenas prácticas de manufactura- BPM para cumplir los objetivos del plan HACCP.
- Difundir, capacitar, motivar a todas las áreas de la organización en la implementación y desarrollo del sistema de aseguramiento de calidad.
- Involucrar a los proveedores en el sistema de calidad proporcionando capacitación, asistencia técnica y basándose en la confianza y beneficio mutuos.
- Desarrollar programas de asistencia técnica y capacitación a clientes y consumidores.
- Realizar confrontaciones de calidad e inocuidad con los registros de control practicados, solicitando al cliente o consumidor que nos retroalimente su satisfacción o inconformidad con el propósito de corregir posibles fallas. Esta investigación de mercado motiva para que realmente la empresa cumpla con la responsabilidad que se ha auto impuesto.
- Documentar la totalidad de los procesos y hacer obligatoria la aplicación de las fichas técnicas y estándares de operación.
- Utilizar y presentar empaques con información amplia, clara y suficiente, de acuerdo a las normas para el tipo de producto que se elabora y de fácil interpretación por el consumidor.
- Fortalecer el desarrollo tecnológico de los procesos empleando recursos humanos capacitados, quienes serán los directos encargados.
- Cumplir con las normas sanitarias vigentes, directivas y procedimientos estándares durante las operaciones de producción, almacenamiento, transporte y comercialización de productos.
- Desarrollar estrategias de sostenibilidad sobre la inocuidad y calidad de los productos alcanzada a través de la implementación del sistema HACCP.

3.4 MARCO TEÓRICO

3.4.1 Higiene, Inspección y Control Alimentario, sistemas de calidad. Un enfoque contemporáneo sobre la higiene de la carne basado en el análisis de riesgos requiere que las medidas higiénicas se apliquen a los puntos de la cadena alimentaria cuando tengan mayor valor para reducir los riesgos alimentarios para los consumidores. Ello deberá reflejarse en la aplicación de medidas específicas que estén basadas en la ciencia y en la evaluación de riesgos, prestando más atención a la prevención y control de la contaminación durante todos los aspectos de la producción de la carne y su ulterior elaboración. La aplicación de los principios HACCP es un elemento esencial. La medida del éxito de los programas actuales es una demostración objetiva de los niveles de control de peligros en los alimentos que están relacionados con los niveles requeridos de protección al consumidor, en lugar de concentrarse en medidas detalladas y prescriptivas que producen resultados

desconocidos¹³. El sistema HACCP, que tiene fundamentos científicos y carácter sistemático, permite identificar peligros específicos y medidas para su control con el fin de garantizar la inocuidad de los alimentos. Es un instrumento para evaluar los peligros y establecer sistemas de control que se centran en la prevención en lugar de basarse principalmente en el ensayo del producto final.

Todo sistema HACCP es susceptible de cambios que pueden derivar de los avances en el diseño del equipo, los procedimientos de elaboración o el sector tecnológico. El sistema HACCP puede aplicarse a lo largo de toda la cadena alimentaria, desde el productor primario hasta el consumidor final, y su aplicación deberá basarse en pruebas científicas de peligros para la salud humana. Además de mejorar la inocuidad de los alimentos, la aplicación del sistema HACCP puede ofrecer otras ventajas significativas, facilitar asimismo la inspección por parte de las autoridades de reglamentación y promover el comercio internacional al aumentar la confianza en la inocuidad de los alimentos¹⁴.

Para que la aplicación del sistema HACCP dé buenos resultados, es necesario que tanto la dirección como el personal se comprometan y participen plenamente. También se requiere un enfoque multidisciplinario en el cual se deberá incluir, cuando proceda, a expertos agrónomos, veterinarios, personal de producción, microbiólogos, especialistas en medicina y salud pública, tecnólogos de los alimentos, expertos en salud ambiental, químicos e ingenieros, según el estudio de que se trate. La aplicación del sistema HACCP es compatible con la aplicación de sistemas de gestión de calidad, como la serie ISO 9000, y es el método utilizado de preferencia para controlar la inocuidad de los alimentos en el marco de tales sistemas¹⁵.

Gutiérrez (2013) afirma que un programa de Seguridad Alimentaria, por medio del sistema HACCP, no sólo puede mejorar la calidad del producto, la eficiencia de la producción, reducir el desperdicio y ahorrar dinero, sino que le permitirá a la empresa productora competir a nivel internacional, ya que este sistema es obligatorio en varios países, incluyendo los EEUU y la Unión Europea¹⁶. Uno de los pre-requisitos para implantar el sistema HACCP son los Procedimientos de

¹³ ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD., ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN Código de prácticas de higiene para la carne Roma 2009

¹⁴ CARRO PAZ, Roberto; GONZALEZ GOMEZ, Daniel Normas HACCP Sistema de Analisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control [en línea] disponible en: http://nulan.mdp.edu.ar/1616/1/11_normas_haccp.pdf

¹⁵ www.fao.org/docrep/v9723t/v9723t0g.htm.

¹⁶ GUITIERREZ, M HACCP (Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control) para el aseguramiento de la calidad del yogurt en la empresa de productos lácteos Leito Tesis Ing. Industrial en Procesos de Automatización 2013 p. 6

operación estándar de sanitización (POES)¹⁷ y Buenas prácticas de manufactura (BPM). Los prerrequisitos se definen de forma clara, están constantemente actualizados, son adecuados a la actividad y a los productos, a sus características y al uso que se les da.

3.4.2. Principios HACCP La calidad de un producto alimenticio está determinada por el cumplimiento de los requisitos, tanto legales como comerciales, la satisfacción del consumidor y la producción en un ciclo de mejora continua. La apreciación de la calidad está directamente relacionada con el estricto respeto de los siguientes principios:

Principio 1: Realizar un análisis de peligros: Identificar los peligros potenciales asociados a la producción de alimentos en todas las fases, desde la producción primaria, la elaboración, fabricación y distribución hasta el lugar de consumo. Evaluar la posibilidad de que surjan uno o más peligros e identificar las medidas para controlarlos.

Principio 2: Determinar los puntos críticos de control (PCC): Determinar los puntos, procedimientos o fases del proceso que pueden controlarse con el fin de eliminar el o los peligros o, en su defecto, reducir al mínimo la posibilidad de que ocurran.

Principio 3: Establecer un límite o límites críticos: Establecer un límite o límites críticos que deben ser cumplidos para asegurar que los PCC estén bajo control.

Principio 4: Establecer un sistema de vigilancia del control de los PCC: Establecer un sistema para vigilar el control de los PCC mediante pruebas u observaciones programadas.

Principio 5: Establecer las medidas correctoras que han de adoptarse cuando la vigilancia indica que un determinado PCC no está controlado.

Principio 6: Establecer procedimientos de verificación para confirmar que el sistema de APPCC funciona eficazmente.

Principio 7: Establecer un sistema de documentación sobre todos los procedimientos y los registros apropiados para estos principios y su aplicación.

3.4.3 Sistema HACCP en la planta de beneficio de la avícola El sistema HACCP en la industria avícola es de gran utilidad, ya que permite de una manera más fácil

¹⁷ GUZMÁN, E; RODRÍGUEZ, A; OTERO, M; MORENO, O. El Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP) como instrumento para la reducción En: Revista Electrónica de Veterinaria. Vol. 62005 pp. 1-14

la identificación de los puntos críticos durante la cadena productiva, y la ejecución de medidas de control, que garanticen la calidad del producto. Durante la etapa de preparación hasta la obtención del producto final, se presentan varios puntos críticos de control que pueden poner en riesgo la confiabilidad del producto, algunos de los cuales ocurren durante las etapas de degüello, sangrado y escaldado y desplumado, ya que puede existir contaminación cruzada con microorganismos patógenos debido a la presencia de residuos, ya sea de desinfectantes o detergentes en el tanque de escaldado.

Es por esto que en la planta de beneficio de la planta avícola se ha contado con certificación HACCP con periodos desde 2000 ha 2015 permitiendo afianzar la seguridad de cada uno de los productos, con dependencias importantes como el laboratorio de control de calidad, programas de saneamiento, de mantenimiento preventivo; y lo más importante la difusión y aplicación desde el nivel directivo hasta el nivel técnico y el personal de operarios en general, con resultados de una divulgación con un enfoque multidisciplinario en los diferentes perfiles de recurso humano que la empresa utiliza en la cadena productiva, con una autoevaluación de todos los procesos y aplicación de una manera rigurosa a los 7 principios generales del plan HACCP con buenos resultados. Actualmente la compañía está en renovación del certificado en el que se está esperando auditoria para el mes de julio del año en curso y así poder volver a contar con él, en el que no se ha dejado atrás la implementación constante de los principios¹⁸.

CRITERIOS DE ESTABLECIMIENTO DE PCC

Deben evaluarse cada una de las fases operacionales y determinar en ellas los Puntos Críticos de Control (PCC) que surgirán de las fases donde se aplican medidas de control que puedan eliminar o reducir los peligros a niveles aceptables. Estos pueden localizarse en cualquier fase, y son característicos de cada proceso. La determinación de los puntos críticos de control necesita de un minucioso análisis, y si bien pueden identificarse en muchas operaciones del proceso, debe darse prioridad a aquellos en donde, si no existe control, puede verse afectada la salud del consumidor¹⁹

PCC VS. PUNTOS DE CONTROL: El Plan HACCP no tendrá el enfoque adecuado, si se identifican puntos de control como PCC, innecesariamente. Solo deben considerarse PCC aquellos puntos donde la falta de control implica ocurrencia de peligros que no pueden ser corregidos satisfactoriamente en un paso posterior²⁰.

¹⁸ ROJAS,. Sandra Sistema HACCP 2017 mayo 19

¹⁹ AVIDESA MAC POLLO Plan de saneamiento Interno, Puntos críticos de control Floridablanca 2017

²⁰ Ibíd.

3.4.4 Programa de reducción de patógenos Parte de la estrategia para estimular mejoras en las prácticas de inocuidad de alimentos es establecer guías y asegurar un control del proceso. Además, le da a la compañía la responsabilidad y la intención de producir alimentos seguros y disminuir el nivel de patógenos.

Un elemento esencial es el realizar exámenes microbiológicos de rutina para poder detectar microorganismos que puedan afectar la inocuidad del producto; Para esto se han definido a nivel internacional los siguientes microorganismos como agentes indicadores o patógenos: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp y *Campylobacter* spp.

Es por esto que la planta de beneficio de la compañía tiene este programa en el que se toman muestras diarias dependiendo de la producción y se envían al laboratorio de calidad en el que son analizadas, para la verificación del Sistema de Aseguramiento de calidad, por los métodos de diagnóstico aprobados por la AOAC Official Method 991.14 o 998.03 9M.

- *E. Coli*: Petrifilm Coliform - enjuague de carcasa aves
- *Salmonella* spp.: Detección Molecular 3M™ Molecular Detection Assay 2-Salmonella Official Method of Analysis SM by AOAC INTERNATIONAL (OMA method number 2016.01).
- *Campylobacter* spp. Manual Analítico Bacteriológico FDA.

Tabla 3. Microorganismos de interés y objetivo de la avícola.

MICROORGANISMOS	OBJETIVO
<i>E. Coli</i> genérico	Verificación de Control de Procesos: <i>E. coli</i> genérico con el objeto de evaluar la eficacia de la limpieza y desinfección y como criterio de verificación del control de procesos.
<i>Salmonella</i> spp.	Cumplimiento de Estándar de Desempeño (Frecuencia y/o concentración máxima de un peligro en un alimento, establecido para una determinada etapa de la cadena productiva).
<i>Campylobacter</i> spp.	Cumplimiento de Estándar de Desempeño (Frecuencia y/o concentración máxima de un peligro en un alimento, establecido para una determinada etapa de la cadena productiva).

Fuente: AVIDESA MAC POLLO S.A Programa de reducción de patógenos 2017. MARCO LEGAL: Decreto 1500 de 2007, Resolución 4287 de 2007, Resolución 2690 de 2015, CFR 9, Pathogen Reduction/HACCP, FSIS/USDA, Estados Unidos.

3.4.5 Proceso de sacrificio de aves en la planta avícola. Durante el proceso de sacrificio de las aves, estas van pasando por una serie de etapas cuya finalidad es el aseguramiento de un producto con altos estándares de calidad e higiene, por el cual la implementación constante de la normativa como el Decreto 1500 de 2007 del Ministerio de Salud y Protección Social es fundamental, ya que este establece los requisitos sanitarios y de inocuidad que se deben cumplir en la producción primaria, beneficio, desposte, desprese, procesamiento, almacenamiento, transporte, comercialización, expendio, importación o exportación.

En la planta de beneficio Avícola se cuenta con estas series de etapas que comprenden una serie de procesos que consisten en:

Recepción: Las aves llegan a la planta de sacrificio en camiones, los guacales son llevados por una cinta transportadora hasta los ganchos donde se cuelgan las aves. Los guacales son lavados en esta misma zona y embarcados nuevamente a los camiones.

Figura 2. Etapa recepción de la planta de beneficio.



Fuente: Autor

Aturdimiento: Una vez colgadas las aves, se procede a conmocionarlas eléctricamente. Pasando por el tanque insensibilizador donde reciben un aturdimiento de bajo voltaje junto con un baño de agua con una mezcla de cloruro de sodio.

Figura 3. Etapa de aturdimiento de la planta de beneficio.



Fuente: Autor

Desangre: A las aves aturcidas se le realiza un corte a nivel del cuello, el tiempo de desangrado oscila entre 90 y 120 segundos; éste se realiza en una zona separada de sangría y sobre un canal de sangre.

Figura 4. Etapa desangre de la planta de beneficio.



Fuente: Autor

Escaldado: Una vez desangradas las aves, se introducen en un baño de agua caliente, conocido como tanque de escaldado, para ablandar las plumas. La temperatura del agua es de $54\pm 2^{\circ}\text{C}$, el tiempo que tarda el proceso es aprox. 2 minutos 71 segundos.

Figura 5. Etapa escaldado de la planta de beneficio.



Fuente: Autor

Desplumado: Al salir del tanque de escaldado las aves pasan por máquinas desplumadoras en forma de dedos las cuales remueven completamente las plumas.

Figura 6. Etapa desplumado de la planta de beneficio.



Fuente: Autor

Eviscerado: La evisceración consiste en eliminar del canal la mayor parte de órganos que contiene en sus cavidades, también se elimina la cabeza, el cuello y los tejidos asociados en ese orden. El proceso se realiza de forma mecánica y recibiendo lavados externos. Las partes comestibles obtenidas como mollejas, corazón y patas se transportan en otro canal con agua hasta la zona de procesamiento de menudencias.

Figura 7. Etapa eviscerado de la planta de beneficio.



Fuente: Autor

Lavado en tanque de inmersión: Una vez retirados todos los órganos internos del ave, se procede a realizar un lavado final del producto, removiendo la mayor parte de residuos de sangre y grasa; es decir lavado de la carne en canal, interna y externamente con el fin de asegurar la limpieza total, garantizando la tolerancia cero de materia fecal.

Figura 8. Lavado en tanque de inmersión de la planta de beneficio.



Fuente: Autor

Pre-chiller y chiller 1: El producto pasa inicialmente la etapa de pre-chiller donde se realiza un pre-enfriado del producto con agua a una temperatura de 7°C durante un tiempo aproximado de 17 minutos. Posteriormente entra al tanque de chiller 1 por un tiempo de 19 minutos a una temperatura de 2-3°C.

Figura 9. Etapa pre-chiller y chiller 1 de la planta de beneficio.



Fuente: Autor

Chiller 2: El agua está a <3°C, para que, cumplido un tiempo de permanencia de unos 57 minutos, las canales salgan del chiller con una temperatura corporal medida en la parte superior de la pechuga (mayor volumen de carne), de 4°C máximo, obteniendo así una temperatura adecuada en el pollo antes de enviarlo al resto del proceso. El agua de enfriamiento se renueva permanente y se sugiere la incorporación a la misma de 30 a 50 ppm de cloro.

Figura 10. Etapa chiller 2 de la planta de beneficio.



Fuente: Autor

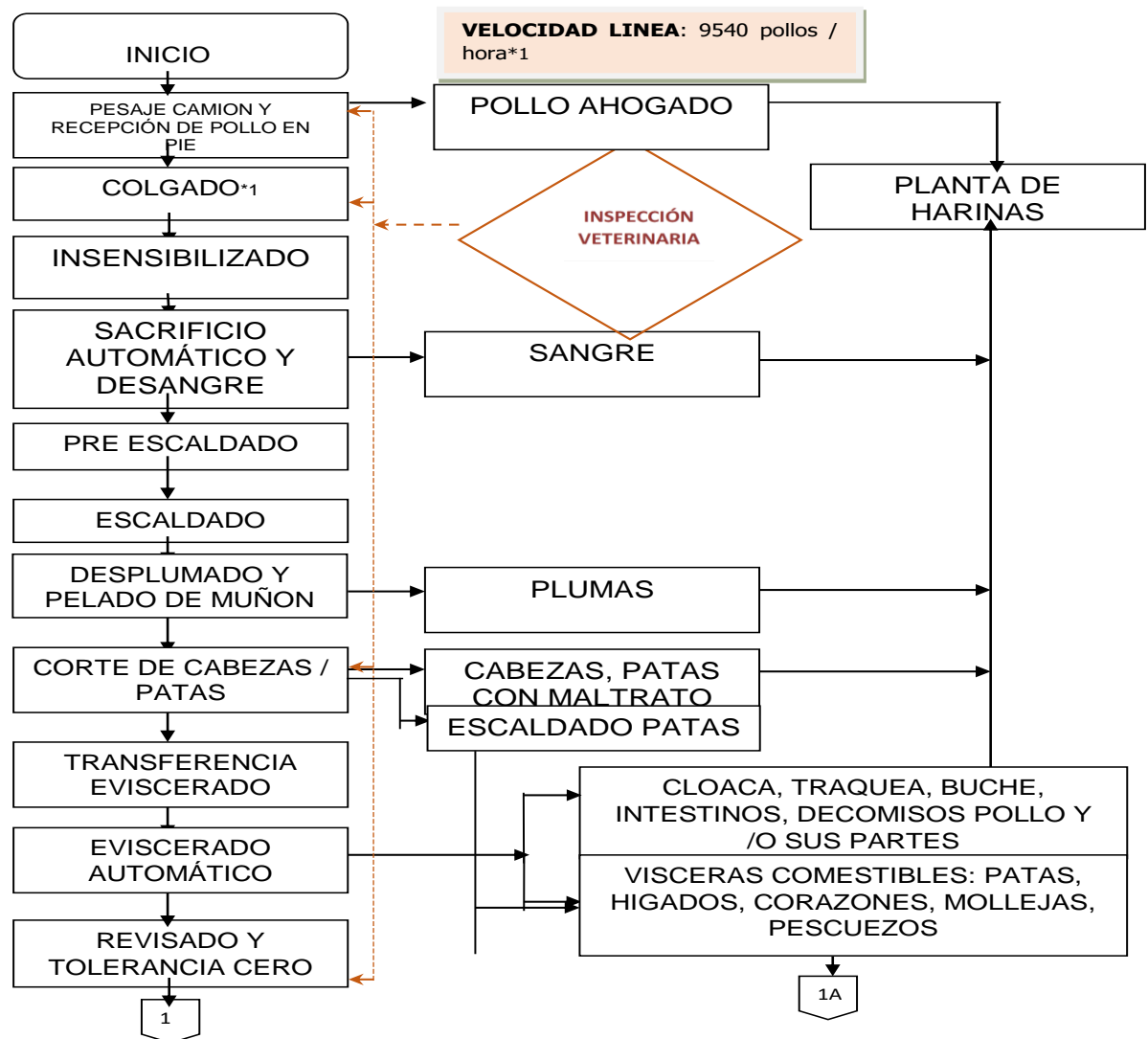
Aspersión con CECURE: Reconocido antimicrobiano, cuyo principio de acción es el CPC (cloruro de cetilpiridino), se le aplica por aspersión a la canal en una concentración de 0.23%.

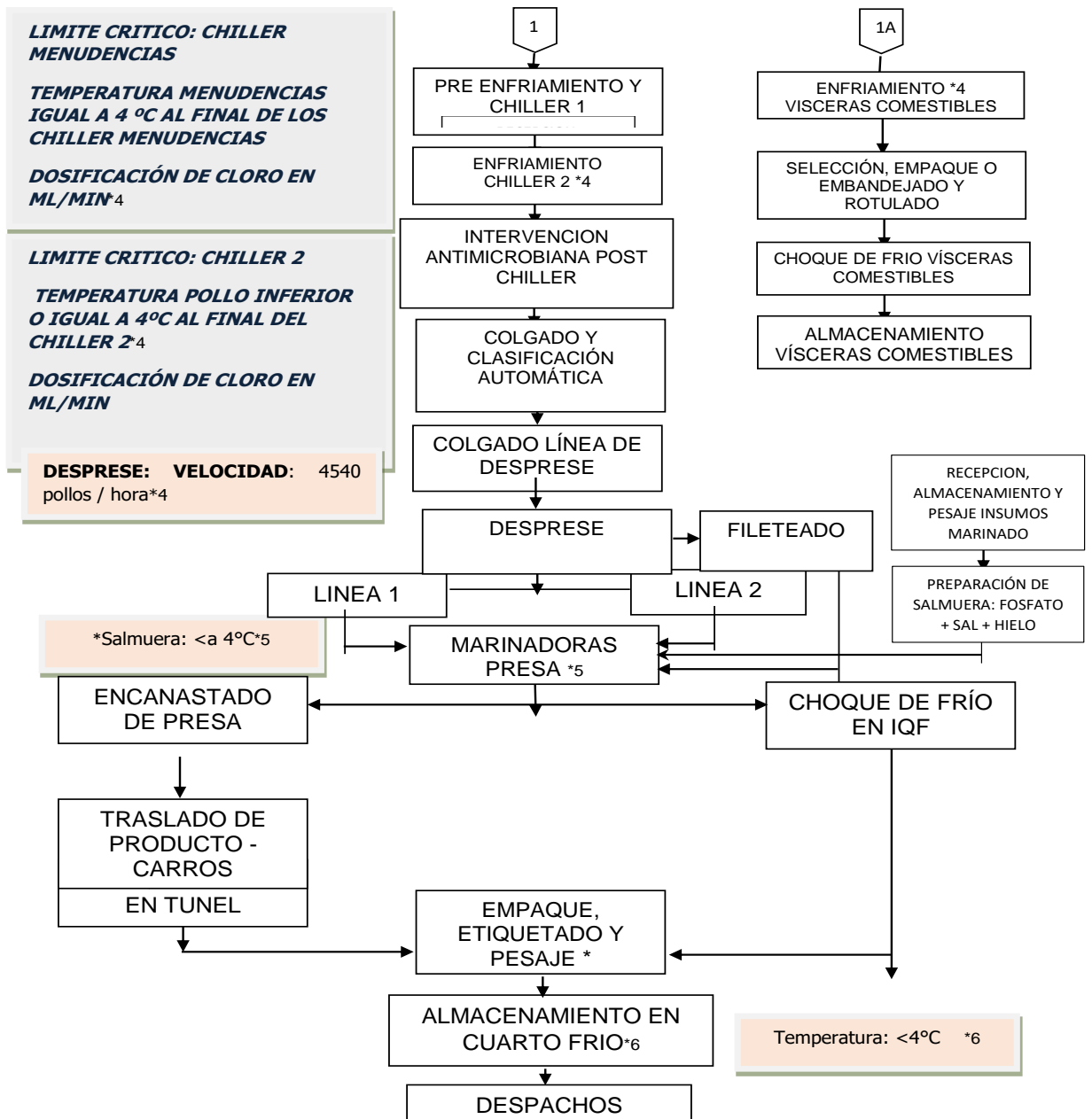
Figura 11. Aspersión del CECURE en la planta de beneficio.



Fuente: Autor

3.4.6 Flujoograma del proceso de beneficio.





Fuente: Manual Plan HACCP.

3.4.7 Medidas a tener en cuenta durante el sacrificio de aves.

Colgado: La velocidad de proceso no debe ser motivo para manipular bruscamente las jaulas con las aves en el envío al área de colgado. El oscurecimiento del sitio donde se cuelgan las aves en el transportador aéreo es un aspecto importante, porque contribuye a mantenerlas tranquilas. Durante el trayecto del colgado al

aturdidor se cumple con el propósito de mantener relajadas las aves con el masajeador de pechugas, para que su aturdimiento se desarrolle adecuadamente.

Aturdimiento: El voltaje y frecuencia de la corriente deben ajustarse al peso de las aves, aspectos como el tiempo de aturrido y el grado de quietud con el cual ingresen las aves a este equipo integran la etapa, permitiendo no correr riesgos de electrocutarlas o que la insensibilización sea deficiente.

Sacrificio: El tiempo de desangre no debe superar los 3-5 minutos. Ya que la sangre representa el 7% del peso vivo y comercialmente la meta es desangrarlas aproximadamente un 45%. El superar este tiempo técnico, ocasiona el inicio del rigor mortis, que tiene sus efectos negativos durante el pelado, por la rigidez cadavérica, reflejada en el endurecimiento de los folículos.

Escaldado: Durante el escaldado se deben observar conjuntamente cuatro aspectos independientemente del tipo de pollos que se desee producir: Amarillo natural – con epidermis-, o blanco, sin ésta, temperatura, tiempo, grado de agitación del agua e inmersión total durante el recorrido a través de la escaldadora. Las dos primeras variables determinan el color final. Los dos restantes facilitan el pelado, porque la agitación favorece que el agua llegue hasta la piel y dilate los folículos.

Desplumado: Es importante precisar los siguientes detalles técnicos: Cercanía entre la última escaldadora y primera peladora, cercanía entre peladoras, una distancia mínima de unos 60 cm está bien, rociado permanente con agua tibia, cuya temperatura esté entre 32°C y 34°C, durante toda la fase del pelado, iniciándose desde el momento en que los pollos salen de la escaldadora, la cantidad de peladoras debe estar acorde con la velocidad de proceso, es conveniente una combinación de peladoras de módulos ajustable a la forma y tamaño de las aves.

Lavado previo a la evisceración: Esta operación que en muchas plantas de beneficio no se realiza tiene una gran incidencia no solo en la calidad sanitaria, sino en la comodidad de quienes manipulan los pollos durante la evisceración por su temperatura corporal incrementada un poco durante el escaldado. *Salmonella* spp se halla adherida a la piel de los pollos, y el lavado ayuda a su remoción. Si se emplea un poco de agua fría es más conveniente porque ayuda a la disminución de la temperatura corporal y por ende atrasa en el crecimiento bacteriano, que en este punto del proceso es muy acelerado: cada 15 minutos, las bacterias se multiplican logarítmicamente.

Evisceración: Debido a la distensión de los tejidos de la vesícula biliar por la producción imparable de bilis, durante la extracción del paquete intestinal y retiro de éste órgano, se corre el riesgo de romperse, aumentando así la contaminación fecal proveniente del animal, por lo que debe darse una inspección por parte de operarios con el fin de realizar un lavado adecuado de la canal contaminada.

Enfriamiento: Se encuentra regida por los mismos principios del escaldado, donde la diferencia es la temperatura del agua. Se realiza en dos etapas: **Pre-enfriamiento:** Lavado de las canales e hidratación promedio en un 17%. Utilizando temperaturas de agua alrededor del 9-12°C en adelante, que favorece una mayor ganancia de peso, porque los poros de la piel donde se aloja el 25% de la hidratación final no se cierran rápidamente. **Enfriamiento final:** Disminución rápida de la temperatura corporal y finalización de la etapa de absorción de agua. La temperatura del agua empleada marca la pauta de la hidratación final obtenida. Durante el enfriamiento, el agua debe estar en promedio próxima a 0°C, para que cumplido un tiempo de permanencia de unos 45 a 60 minutos, las canales salgan del chiller con una temperatura corporal medida en la parte superior de la pechuga mayor volumen de carne, de 2°C, el porcentaje de absorción de agua dependerá en gran parte de la turbulencia de la misma y de la inmersión total de las carcasas durante esta etapa.

Empaque: Para que se mantenga la cadena de frío una vez las canales que salen del chiller es importante evitar la formación de cuellos de botella, porque éstos contribuyen al incremento de la temperatura corporal y a la pérdida de hidratación. La exudación se inicia a partir de los 3°C. Por lo tanto, la rapidez con la cual las carcasas se cuelguen en el transportador aéreo de escurrimiento y clasificación, a su posterior embolsado, determinará que los pollos ingresen a las cavas con una temperatura máxima de 4°C. Un detalle de infraestructura en esta área es la climatización de la misma, manteniendo una temperatura promedio ambiente constante de 8°C para retardar la pérdida de frío de las carcasas²¹. Y de acuerdo a la Resolución 242 del 2013 la temperatura de las áreas no debe superar los 12°C²²
²³.

3.4.8 Principales líneas productoras de carne La genética avícola en Colombia se ha mejorado para los pollos de engorde y las ponedoras. En la de pollos de engorde, el 95% pertenece a las razas Ross y COBB²⁴. Estas razas son de buena conversión alimenticia, alta rusticidad en el manejo y de fácil adaptación a los cambios climáticos, siendo la COBB de más rápido crecimiento que la Ross. Los ciclos de los pollos de engorde son cada vez más cortos, dependiendo del peso al que se quiera sacrificar; hace 20 años era de 90 días y actualmente es de 35 días si es para asaderos, donde requieren pollos de 2.000 gramos, o de 42 días cuando

²¹ MORENO CALDERON Kelly Determinación y cuantificación de *Escherichia coli* y *Salmonella spp* como medida de verificación para la reducción de la contaminación microbiológica generada en procesos de sacrificio de aves Pamplona 2010

²² AVIDESA MAC POLLO S.A Sistema aseguramiento de calidad planta de beneficio y desprese, Analisis de peligros y criterio de decisión de PCC para pollo entero, presas 2017

²³ AVIDESA MAC POLLO Op. Cit.

²⁴ FERNANDEZ, Catalina Genética, un mercado que fortalece al sector avícola En: Agronegocios, núm 101 2014 pp. 16-17

es pollo para despresar, cuyos pesos promedio varía entre 2.330 gramos si es hembra a 2.760 gramos si son machos²⁵.

3.4.8.1 ROSS Es una de las variedades más populares a lo largo del mundo. Su reputación se basa en la habilidad del ave de crecer rápidamente con el mínimo consumo de alimento. Entro al país en 1997 siendo una de las variedades más populares a lo largo del mundo, siendo un ave criada para producir una buena cantidad de carne a bajo costo con el mínimo consumo de alimento, alcanzando el éxito gracias al énfasis en: ganancia de peso, conversión eficiente de alimento, resistencia a las enfermedades, rendimiento en carne de pechugas y producción de huevo²⁶.

3.4.8.2 COBB Es una de las razas de pollo de engorde más antiguas de mundo, fue creada por la compañía COBB VANTRESS al comienzo de 1916 en Massachussets. Presenta una mayor capacidad de producir carne con menor consumo de alimento con los productos que se tienen y que son capaces de cumplir con los estándares propuestos y en una amplia gama de ambientes²⁷

Figura 12. Principales Razas de aves utilizadas en la planta.



Tomada de: <http://www.morrishatchery.com/ross.html#>

3.4.9 Microbiota característica de la carne de aves La carne de aves en general, y la de pollo en particular, pueden ser un vehículo muy importante de flora patógena para los humanos. Entre los microorganismos patógenos frecuentemente presentes en carne aviar, se encuentran principalmente: *Salmonella* spp, *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* y *Bacillus cereus*. Las canales de pollo presentan unos índices de carga microbiana post sacrificio muy superiores al de otras especies no avícolas. Esto es así, dado que la piel sin ningún tipo de tratamiento agresivo, y por tanto con su flora microbiana, llega al producto final²⁸.

²⁵ DIAZ, AGUILERA María Determinantes del desarrollo en la avicultura en Colombia: [en línea] disponible en: http://www.banrep.gov.co/docum/Lectura_finanzas/pdf/dtser_214.pdf

²⁶ BASTIDAS, Yesid Eduardo Avicultura [en línea] disponible en: <http://lasgallinitas.blogspot.com.co/>

²⁷ DIAZ, AGUILERA Maria Op. Cit.

²⁸ Silva, Julia; RECAVARREN, Mariana; WILLIAMS, Karen Detección de bacterias patógenas productoras de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en carne aviar [en línea] disponible en:

3.4.9.1 Familia Enterobacteriaceae: La familia Enterobacteriaceae constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas, facultativamente anaerobias, no forman esporas, en forma de varilla e incluye los patógenos transmitidos por alimentos. Reciben su nombre por la localización habitual como saprofitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos, encontrándose de forma universal en el suelo, el agua y la vegetación, así como formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales además del hombre²⁹. Estos géneros se han clasificado en función de la homología del ADN, las propiedades bioquímicas, las reacciones serológicas, la susceptibilidad a bacteriófagos específicos de géneros y especies, y los patrones de sensibilidad a los antibióticos. A pesar de la complejidad de esta familia, más del 95% de los aislados de importancia médica corresponden a 10 géneros.

Tabla 4. Localizaciones de infección por las Enterobacterias más frecuentes, enumeradas por orden de prevalencia.

Localización	Enterobacterias más frecuentes
Sistema nervioso central	<i>Escherichia</i>
Tracto respiratorio inferior	<i>Klebsiella, Enterobacter, Escherichia</i>
Torrente sanguíneo	<i>Escherichia, Klebsiella, Enterobacter</i>
Tracto digestivo	<i>Salmonella, Shigella, Escherichia, Yersinia</i>
Tracto urinario	<i>Escherichia, Proteus, Klebsiella, Morganella</i>

Fuente: FACMED Enterobacterias Medicine 2010 [en línea] disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf

Algunos miembros de la familia como *Shigella* spp, *Salmonella* spp, *Yersinia pestis* siempre se asocian a enfermedad cuando se aíslan en el hombre, mientras que otros como *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, son miembros de la flora saprofita normal que produce infecciones oportunistas³⁰.

3.4.9.2 *Campylobacter jejuni*.

Descripción General: Las especies del género *Campylobacter* spp. Agrupan bacilos Gram negativos curvos, por lo general con forma espiralada de S o curva, que presenta un flagelo único en uno o ambos extremos. Actualmente, el

[http://ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/548/Silva%2c%20Julia%20-%20Facultad%20de%](http://ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/548/Silva%2c%20Julia%20-%20Facultad%20de%20)

²⁹ García, Puerta A; Rodríguez, Mateos F Enterobacterias 2010 [en línea] disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf

³⁰ GARCÍA, PUERTA A; RODRÍGUEZ, Mateos F Enterobacterias [en línea] disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf

género *Campylobacter* comprende 17 especies y seis subespecies, de las cuales las detectadas con más frecuencia en enfermedades humanas son *C. jejuni* (subespecie *jejuni*) y *C. coli*. En pacientes con enfermedades diarreicas también se han aislado otras especies, como *C. lari* y *C. upsaliensis*, pero son menos frecuentes. La campilobacteriosis, se presenta cada año y la padecen cerca de 1 de cada 10 personas y son causa de la pérdida de 33 millones de años de vida saludable. Las enfermedades diarreicas son las más frecuentes entre las causadas por los alimentos, con 550 millones de casos anuales, entre ellos 220 millones de niños de menos de 5 años. *Campylobacter* es una de las cuatro principales causas mundiales de enfermedad diarreica³¹.

Es relativamente frágil y sensible al medio ambiente (concentraciones atmosféricas de oxígeno, deshidratación, calentamiento, desinfectantes, condiciones ácidas). Debido a sus características microaerófilas, sólo requiere de 3 a 5% de Oxígeno y de 2 a 10% de dióxido de carbono como condiciones óptimas de crecimiento. Actualmente, este microorganismo es el que tiene mayor asociación con las campilobacteriosis reportadas en los seres humanos; la temperatura ideal de crecimiento oscila entre 37°C y 42°C. *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* son termotolerantes que crecen mejor a 42°C, pero son incapaces de crecer por debajo de 30,5°C por encima de 45°C. En condiciones óptimas su multiplicación es lenta, con tiempos de generación de una hora. Sobreviven mejor en refrigeración (4°C), que a temperatura ambiente (20°C) y hasta 15 veces más tiempo a 2°C que a 20°C, en este sentido las temperaturas de congelación reducen la carga inicial en un ciclo logarítmico para luego extenderse en una reducción gradual durante el almacenamiento que varía en relación al tipo de alimento y temperatura, propiedad que resulta útil para su selección en el aislamiento a partir de fuentes intestinales. No fermentan ni oxidan hidratos de carbono, generando energía a partir de aminoácidos o de intermediarios del ácido tricarbónico por la vía respiratoria. Si bien poseen catalasa y super óxido dismutasa, estas enzimas son reprimidas por el exceso de peróxido de hidrógeno y por los iones de superóxido que se forman cuando crecen en presencia de concentraciones atmosféricas de oxígeno³².

RESERVORIO Y VÍA DE TRASMISIÓN

El reservorio es el tubo digestivo de un gran número de animales de sangre caliente, principalmente las aves en el que es un microorganismo comensal común del tracto intestinal de los pollos de engorde con niveles hasta de 1010 UFC/g de materia fecal. Se encuentra especialmente en la mucosa de las criptas de los ciegos y cloaca. También está presente en la piel, el buche e hígado, donde está presente

³¹ OMS, Organización Mundial de la Salud *Campylobacter* [en línea] disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/es/>

³² INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCION SOCIAL Documentos de evaluación de riesgos para la inocuidad de los alimentos 2013

como saprofito y también como patógeno entérico ocasional³³. La vía fecal-oral, directa o indirecta probablemente sea el principal modo de difusión. La infección tiene lugar como consecuencia de la ingestión de un producto animal originariamente contaminado con heces infectadas. La mayoría de los casos de campilobacteriosis están asociados con la manipulación de pollos crudos o la ingestión de carne de pollo cruda o mal cocido. Muchos pollos son infectados silenciosamente por *Campylobacter* spp, es decir, los pollos son infectados, pero no muestran signos de enfermedad, raramente se presenta enfermedad, puede propagarse fácilmente de un ave a otra a través de una fuente común de agua o mediante contactos con heces infectadas. Cuando se sacrifica un ave infectada, puede transferirse de los intestinos a la carne y al ambiente y, en consecuencia, casi todas las canales que se encuentran almacenadas estarán contaminadas³⁴.

3.4.9.3 *Escherichia coli*

Descripción General: *Escherichia coli* (*E. coli*) es una bacteria presente frecuentemente en el intestino distal de los organismos de sangre caliente, de forma bacilar, Gram negativos, aeróbicos y anaeróbicos facultativos, no forman esporas y fermentan la lactosa con producción de ácido y gas a 35°C dentro de 48 horas. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inocuas, pero algunas pueden causar graves intoxicaciones alimentarias. Es productora de toxina Shiga y puede causar graves enfermedades a través de los alimentos. La toxina es llamada así por su semejanza con las toxinas producidas por *Shigella dysenteriae*. *E. coli* productora de toxina Shiga puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7°C y 50°C, con una temperatura óptima de 37°C. Algunas pueden proliferar en alimentos ácidos, hasta a un pH de 4,4, y en alimentos con una actividad de agua (*a_w*) mínima de 0,95. *E. coli* productora de toxina Shiga se destruye cocinando los alimentos hasta que todas las partes alcancen una temperatura de 70°C o más. *E. coli* O157: H7 es el serotipo de *E. coli* productora de toxina Shiga más importante por su impacto en la salud pública, pero hay también otros serotipos frecuentemente implicados en brotes y casos esporádicos.³⁵

Los coliformes fecales fermentan lactosa con producción de ácido y gas en 24 horas a temperaturas entre 44-46°C, usualmente a 44.5°C. Más del 90% de los coliformes fecales son del género *Escherichia*, usualmente, *Escherichia coli*. Este microorganismo fue establecido como un patógeno asociado a los alimentos en 1971 cuando quesos importados contaminados con una cepa entero invasiva ocasionaron más de 400 casos de infección. Se puede distinguir de los demás

³³ OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD *Campylobacter* [en línea] disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/es/>

³⁴ MALBRÁN, CARLOS G Manual de procedimientos, *Campylobacter* Buenos Aires: Subsecretaría de Investigación y Tecnología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. 2001

³⁵ OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD *E. coli* [en línea] disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>

Coliformes termo tolerantes por su capacidad para producción indol a partir del triptofano o por la producción de la enzima β -glucuronidasa³⁶.

Las bacterias del grupo de los coliformes totales que son capaces de fermentar lactosa a 44-45 °C se conocen como coliformes termo tolerantes. En la mayoría de las aguas, el género predominante es *Escherichia* spp, pero algunos tipos de bacterias de los géneros *Citrobacter* spp, *Klebsiella* spp y *Enterobacter* spp también son termo tolerantes. *Escherichia coli* se puede distinguir de los demás coliformes termo tolerantes por su capacidad para producir indol a partir de triptófano o por la producción de la enzima β -glucuronidasa. Presente en concentraciones muy grandes en las heces humanas y animales, y raramente se encuentra en ausencia de contaminación fecal, aunque hay indicios de que puede crecer en suelos tropicales. Entre las especies de coliformes termo tolerantes, además de *E. coli*, puede haber microorganismos ambientales³⁷.

RESERVORIO Y VIA DE TRANSMISION

Las dos fuentes principales de coliformes son los desechos humanos y animales y el ambiente, el origen principal de los brotes de *E. coli* productora de toxina Shiga son las carnes de aves o vacunos y hortalizas contaminadas por materia fecal. Aunque el principal reservorio de este patógeno es el ganado bovino también se considera reservorios importantes otros rumiantes, mamíferos y aves como pollos y pavos. La mayoría de los casos remite espontáneamente, la enfermedad puede llegar a poner en peligro la vida, por ejemplo, cuando da lugar al síndrome hemolítico urémico, especialmente en niños pequeños y ancianos³⁸.

3.4.9.4 *Salmonella* spp

Descripción General: El género *Salmonella* es representativo de la familia Enterobacteriaceae, son bacilos Gram negativos que no forman esporas, anaeróbicas facultativas que se caracterizan por ser oxidasas negativas, mayoritariamente son bacterias móviles por la presencia de abundantes flagelos peritricos. Las cepas de este género pueden desarrollarse en un amplio rango de temperatura que oscila entre los 7°C y 48°C, presentan un pH de crecimiento óptimo entre 4 y 8 y se desarrollan en ambientes con una actividad de agua de 0,93 y en

³⁶ RAMÍREZ, R.M, Almanza, Y.C Detección de moléculas asociadas a la patogenicidad de *E. coli* aviar XII JORNADAS DE INVESTIGACIÓN, Revista Investigación Científica, Vol. 4 No. 2 2008 pp. 1-2

³⁷ MORENO, C. K. Determinación y cuantificación de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp como medida de verificación para la reducción de la contaminación microbiológica generada en procesos de sacrificio de aves. Pamplona. 2010

³⁸ OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD Op. Cit.

este género en particular presentan tres tipos de antígenos: somático O, flagelar H y capsular Vi, cuyas propiedades de aglutinación se emplean para diferenciar a más de 2500 serotipos³⁹. Cada año se aumentan nuevos serotipos a la lista de Kauffmann–White. El género *Salmonella* consta de sólo dos especies, *Salmonella bongori* y *Salmonella enterica*, esta última se divide en seis subespecies: entericae, salamae, arizonae, diarizonae, houtenae e indica. Los serotipos de la subespecie entericae causan 99% de las salmonelosis en humanos y animales superiores. Para fines prácticos de diagnóstico y epidemiología, la nomenclatura se basa en los nombres de los serotipos de la subespecie, por ejemplo, *Salmonella enterica*, subespecie entericae, serotipo Enteritidis, se abrevia como *Salmonella* Enteritidis⁴⁰. Los diversos serotipos tienen diferentes grados de adaptación y patogenicidad para los humanos y las especies animales; por ejemplo, *Salmonella enterica* serotipo Typhi y *Salmonella enterica* serotipo Paratyphi causan enfermedades severas en humanos, conocidas como síndrome septicémico y fiebre tifoidea, pero estos serotipos no son patógenos para los animales. Asimismo, los serotipos *Salmonella gallinarum* y *Salmonella abortus–ovis* son, respectivamente, causantes de la tifoidea aviar y de abortos infecciosos en las ovejas, pero sólo ocasionalmente producen infecciones leves o asintomáticas en humanos. Existen, sin embargo, serotipos como *Salmonella choleraesuis* que causa enfermedad severa en su principal portador, que es el cerdo, pero también puede causar enfermedad sistémica grave en humanos. Los serotipos *Salmonella* enteritidis y *Salmonella typhimurium* infectan tanto a humanos como a animales, pero en éstos, principalmente en los pollos, producen infecciones asintomáticas⁴¹.

RESERVORIO Y VIA DE TRANSMISION

Se sabe que el pollo y el cerdo son los principales reservorios de *Salmonella* spp. La carne de pollo y otros tipos de carne (res y pavo) provenientes de animales infectados son un importante vehículo de salmonelosis. Otros alimentos de origen animal, como los huevos, también son vehículo de transmisión, así como algunos alimentos como frutas y vegetales. *Salmonella* spp es transmitida principalmente a los humanos por el consumo de alimentos contaminados se estima corresponde al 90-95% de los casos de salmonelosis; no obstante, otras vías de transmisión incluyen: contacto con personas infectadas y los animales infectados⁴².

³⁹ OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD Salmonelosis- Estados Unidos de América [en línea] disponible en: <http://www.who.int/csr/don/28-april-2016-salmonellosis-usa/es/>

⁴⁰ CASTILLO, GUTIERREZ Adriana del Carmen; MARTINEZ, PAASCH Leopoldo Henri; CALDERON, APODACA Norma Leticia Salmonelosis y campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo En: Scielo Vol. 39 No. 1 2008

⁴¹ Ibíd.

⁴² OMS, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD Op. Cit.

La constitución antigénica de las células de *Salmonella* spp presentan diversos antígenos que recubren la membrana citoplasmática, destacando, desde el interior hacia el exterior.

- AgH (antígeno flagelar).
- AgO (antígenosomático, constituido por los lipolisacáridosendotóxicos).
- AgVi (antígeno de virulencia - antifagocitario, formado por ácido N.acetilgalactosaminurónico).

El antígeno flagelar, suele dividirse en dos tipos; AgH en fase 1 y en fase 2; en el primer caso (H1), lo más relevantes es que se trata de un Ag específico de especie, que solo se expresa durante las primeras 24 horas del crecimiento. Por lo que se refiere al H₂, es compartido por varias especies de *Salmonella* spp y el gen que codifica para su producción es la Ag H₂, que se manifiesta a partir de las 24 horas posteriores al inicio del desarrollo. Los serogrupos van identificados desde la A hasta la Z dependiendo de su contenido somático. Por agotamiento del alfabeto los subsiguientes serogrupos se nombran con el número del antígeno (a partir del 51 hasta el 65)⁴³.

Una vez serogrupo las *Salmonellas* se procede a tipificarlos mediante los antígenos flagelares que se designan por las letras minúsculas a,b,c,d,e,f,g y números arábigos.

Tabla 5. Número actual de serovariedades de *Salmonella* spp.

<i>Salmonella enterica</i>	2.537
<i>S.enterica subespecie enterica</i>	1.531
<i>S.enterica subespecie salamae</i>	505
<i>S.enterica subespecie arizona</i>	99
<i>S.enterica subespecie diarizonae</i>	336
<i>S.enterica subespecie houtenae</i>	73
<i>S.enterica subespecie indica</i>	13
<i>Salmonella bongori</i>	22
Total genero <i>Salmonella</i>	2.579

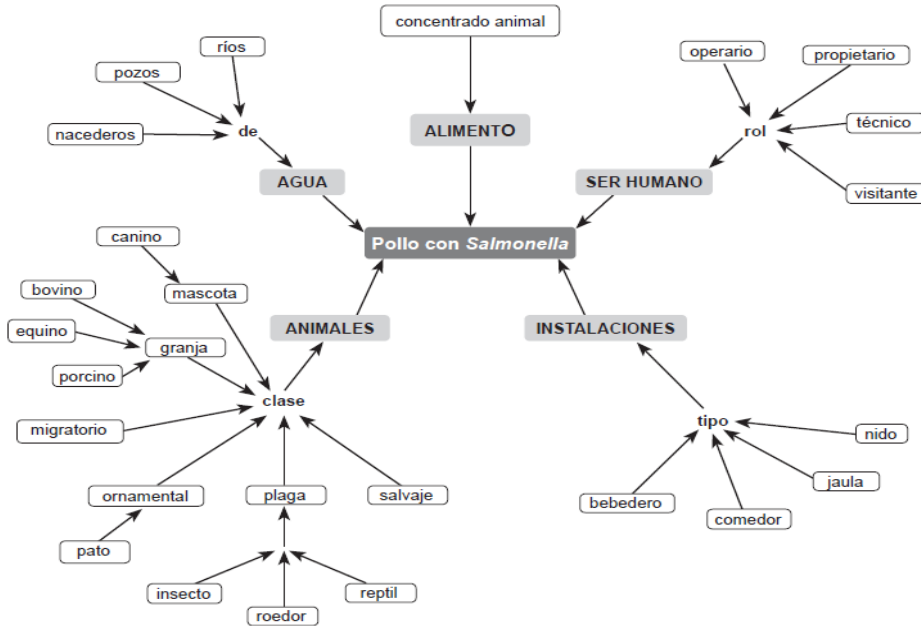
Fuente: BOTERO, HOYOS Luis Alberto Actualidades Sobre salmonelosis aviar. [en línea] disponible en: <http://www.engormix.com/avicultura/articulos/salmonelosis-control-t27074.htm>

Hasta la fecha se han aislado más de 2.500 serotipos, pero se ha observado que solo menos del 50 se encuentran con frecuencia significativas en animales infectados. Los serotipos más frecuentes aislados corresponden a *Salmonella*

⁴³ MORENO Op. Cit.

*enteritidis Salmonella typhimurium, Salmonella newport, Salmonella javiana, Salmonella agona, Salmonella Montevideo*⁴⁴

Figura 13. Vías de transmisión de *Salmonella* spp.



Fuente: RODRIGUEZ, M Fuente de contaminación en granjas-Salmonella aviar [en línea] disponible en: <https://es.slideshare.net/IvanGonzalez80/salmonella-aviar-1>

Teniendo en cuenta las diversas variedades serológicas y la preocupación que existe en la industria avícola los serotipos pueden agruparse en tres categorías: primero encontramos las que producen enfermedades clásicas en las aves exclusivamente *Salmonella pullorum* y *Salmonella gallinarum* (inmóviles). En segundo lugar, encontramos las que por lo general no producen enfermedades de las aves y son la gran mayoría pero que cuando encuentran condiciones favorables causan intoxicaciones de origen alimenticio en seres humanos, estas se conocen como serotipos exóticos y a menudo se encuentran en el tracto digestivo de las aves, pero sin afectar la salud de estas. En tercer lugar, existe un pequeño grupo que tiene la capacidad de producir problemas de origen alimenticio en los seres humanos y enfermedad en las aves y son las llamadas *Salmonellas paratifoideas* como *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* y *Salmonella heidelberg*⁴⁵

RESERVORIO Y VIAS DE TRANSMISION

El género *Salmonella* spp está ampliamente distribuido en el medio ambiente, pero solo unas especies o serotipos presentan especificidad de hospedador, a través de

⁴⁴ BOTERO, HOYOS Luis Alberto Actualidades Sobre salmonelosis aviar. [en línea] disponible en: <http://www.engormix.com/avicultura/articulos/salmonelosis-control-t27074.htm>

⁴⁵ Ibíd.

alimentos como la carne especialmente la de pollo, constituye un gran reservorio para este microorganismo. Las fuentes de infección suelen ser otros animales portadores infectados, pero también otros mamíferos, aves, roedores, insectos, el hombre, el agua o el alimento contaminado y el ambiente de la granja (heces, polvo, equipos, suelos mal desinfectados, etc.). La principal puerta de entrada de *Salmonella* spp es la vía oral, por contacto con heces de animales infectados. Resistente al pH del estómago, sales biliares y peristaltismo, coloniza el intestino delgado e invade los ganglios linfáticos mesentéricos, provocando una infección localizada. *Salmonella* spp evade las defensas intracelulares de las células intestinales sin ser destruida y comienza a dividirse dentro de la célula. Posteriormente, pasa a la sangre y produce una infección sistémica, multiplicándose en macrófagos, y localizándose en hígado, bazo, médula ósea, etc. Se elimina por las heces, y se multiplica en el ambiente, donde es muy resistente. En caso de entrada por vía aerógena, se produce una invasión en las amígdalas y los pulmones⁴⁶.

3.4.10 Agentes desinfectantes Hay muchos tipos de desinfectantes químicos disponibles en el mercado. Los desinfectantes deben seleccionarse considerando los microorganismos que se desea eliminar, el tipo de producto que se elabora y el material de las superficies que entran en contacto con el producto. Deben usarse desinfectantes químicos cuando no sea viable la aplicación de calor. Por eso es importante que, en los establecimientos, se utilicen desinfectantes autorizados y su manejo sea controlado, de esta manera evitaremos una contaminación química de los alimentos.

DESINFECTANTE ANTIMICROBIANO CECURE (Cloruro de cetil pirimidino - CPC): El cloruro de cetilpiridinio (CPC) como el producto comercial, Cecure fue aprobado por la Administración de medicamentos y Alimentos (FDA) en el 2004 en el que un grupo de investigadores encontraron que este desinfectante es más efectivo que cualquier otro antibacteriano probado anteriormente para el control de patógenos en alimentos como *Salmonella* spp, *E. coli* 0157:H7, *E. coli* no 0157:H7 productoras de Shiga toxina (STEC), *Campylobacter* spp y *Listeria* spp. No posee efectos adversos organolépticamente o de apariencia para los productos tratados. Reduce efectivamente los recuentos microbiológicos y la incidencia de *Salmonella* spp, *E. coli* y *Campylobacter* spp en las canales de pollo. Puede ser aplicado por una variedad de métodos, tanto antes o después del pasaje por chiller de inmersión o de aire. El cloruro de cetilpiridinio es un catiónico de amonio cuaternario tensioactivo, que reduce patógenos en productos avícolas y puede ser usado como un punto crítico de control (PCC) en un paso de intervención del programa HACCP. Grado de Bioseguridad del Cecure en anexo 10.

⁴⁶ CRESA Salmonelosis [en línea] disponible en: <http://www.cresa.es/granja/salmonelosis.pdf>

4. METODOLOGÍA

4.1 ÁREAS DE ESTUDIO

El presente proyecto se llevó a cabo en la planta de beneficio de una empresa avícola en la ciudad de Floridablanca/Sder, tomando como referencia metodologías empleadas en la empresa para la toma y análisis de las muestras.

4.2 PRUEBAS PRELIMINARES.

Debido a la complejidad se realizaron pruebas preliminares. También se determinaron los medios disponibles en el laboratorio y se probó su efectividad para el aislamiento de los microorganismos deseados. Se realizó pruebas de aislamiento y recuperación (presencia/ausencia) y Numero Más Probable Miniaturizado (NMP) de *Salmonella* a partir de pastas tipo C (utilizada para la elaboración de embutidos), alternado con las pruebas de detección molecular. La importancia de las pruebas preliminares se basó en la organización y planificación de los periodos de incubación, tiempo de procesamiento de muestras y familiarización con los resultados positivos de *Salmonella*.

Para determinar el número de muestras por etapas, se consideraron cuatro factores: la toma de datos durante los dos meses, los días del muestreo, el tiempo de caracterización de cada microorganismo de estudio y el material utilizado en cada muestreo, dando un total de 97 muestras por etapa para cada microorganismo de estudio. Las muestras tomadas fueron clasificadas dependiendo de la etapa del proceso como: Recepción, escaldadora, desplumadora, eviscerado, salida chiller y post chiller, tomados al azar, sin importar la granja de turno, las muestras se transportaron en una hielera con packs refrigerantes para mantenerlas a 4°C para su transporte el mismo día hasta el laboratorio de Patología Héctor Fidel Loaiza M ubicado en Floridablanca-Sder.

4.3 TIPO DE MUESTRAS

Se estableció como unidades de muestreo para el análisis microbiológico enjuagues del cuerpo completo del pollo en seis etapas del proceso, para la detección de *Salmonella* spp enumeradas como: 1. Recepción antes de entrar al escaldado, 2. Escaldado antes de entrar al desplumado, 3. Desplumado antes de entrar al cabecero, 4. Eviscerado antes de entrar al chiller, 5. Salida del chiller, antes del CECURE y 6. Post chiller, después del CECURE, y para *Campylobacter* spp y *E. coli*. Cinco etapas donde se omitió la de recepción.

4.4 NUMERO DE MUESTRAS

Se realizó 15 muestreos, y en cada uno de estos se tomaron al inicio 8 enjuagues por etapa para los primeros cuatro muestreos, y en la siguiente semana se tomó 5 enjuagues por etapa, finalizando con 6 enjuagues para un total de 485 muestras para *Campylobacter* spp, al igual que para *E. coli* y 582 muestras para *Salmonella* spp. (El numero vario por los factores mencionados antes).

4.5 FRECUENCIA DEL MUESTREO

Las muestras se recogieron 2 veces por semana (lunes y miércoles), durante 2 meses.

Tabla 6. Distribución y número de muestras tomadas para cada etapa del proceso de beneficio.

ETAPA	N° DE MUESTRAS RECOGIDAS			MICROORGANISMO
	Muestreo 1, 2, 3 y 4	Muestreo 5	Muestreo 6 al 10	
Recepción	8	5	6	<i>Salmonella</i> spp
Escaldado	8	5	6	<i>Campylobacter</i> spp, <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.
Desplumado	8	5	6	<i>Campylobacter</i> spp, <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.
Eviscerado	8	5	6	<i>Campylobacter</i> spp, <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.
Salida chiller	8	5	6	<i>Campylobacter</i> spp, <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.
Post chiller	8	5	6	<i>Campylobacter</i> spp, <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.
Total	48	30	36	

Fuente: Autor.

4.6 MUESTRAS POR MÉTODO DE ENJUAGUE

El muestreo se realizó a partir del cuerpo de los pollos completos, tomándolos al azar teniendo en cuenta que fueron de la misma granja en cada punto de las etapas; inmediatamente después de la recolección se colocó en bolsas estériles y se les adicionó 400 mL de agua de peptona tamponada ISO estéril, se agito manualmente durante 1 minuto aproximadamente y se retiró el pollo, quedando con el enjuague para sellarlo y se colocó en una cava con hielo para su traslado al laboratorio, a una temperatura entre 4 a 8°C.

4.7 MÉTODOS DE AISLAMIENTO Y PARÁMETROS

Para la verificación del sistema de aseguramiento de calidad, el método diagnóstico usado fue el aprobado por la AOAC Official Method 991.14 o 998.03 9M

- *E. coli*: Petrifilm Coliform - enjuague de carcasa aves
- *Salmonella* spp.: Método miniaturizado de NMP y confirmación por Serología y Detección Molecular 3M™ Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Official

Method of AnalysisSM by AOAC INTERNATIONAL (OMA method number 2016.01).

- *Campylobacter*. Manual Analítico Bacteriológico FDA⁴⁷.

4.8 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Campylobacter spp

El aislamiento de *Campylobacter* spp, se realizó por siembra en agar Agar Campyfood de BIOMERIEUX (CFA), inoculando 0,1 mL de la dilución diez menos uno (10^{-1}) de los enjuagues y haciendo extendido de la muestra en el agar con ayuda de una pipeta. Las cajas se incubaron en jarra de anaerobiosis con un sobre de anaerocult a 42°C/48 horas. Las colonias de *Campylobacter* spp se confirmaron en base a su morfología colonias color roja verde brillante de forma redonda, pequeñas y puntiforme; aquellas sospechosas se les realizó prueba de catalasa, colocando la colonia en una lámina porta objetos para agregar 1 gota de peróxido de hidrogeno al 3%, y prueba de oxidasa donde se tomó 1 mL de agua destilada y se adiciono en un tubo de ensayo pequeño, en el que se tomó una colonia presuntiva para posterior adición de un disco o tira de oxidasa; se esperó 5 minutos para observar una coloración fucsia a violeta la cual indico una prueba de oxidasa positiva para *Campylobacter* spp, seguido de esto se repicó la colonia en siembra masiva a agar sangre (COS) de BIOMERIEUX en anaerobiosis a 37°C/24 horas y las colonias con morfología pequeñas, redondas, color crema para *Campylobacter* spp se les realizó prueba API para confirmar.

Figura 14. Siembra en Agar Campyfood de BIOMERIEUX (CFA).



Fuente: Autor

Escherichia coli

Para el aislamiento de *Escherichia coli* se realizaron diferentes diluciones en 9 mL de agua peptona estéril directamente de cada uno de los enjuagues (Tabla 7)

⁴⁷ AVIDESA MAC POLLO Programa de reducción de patógenos- sistema HACCP 2017

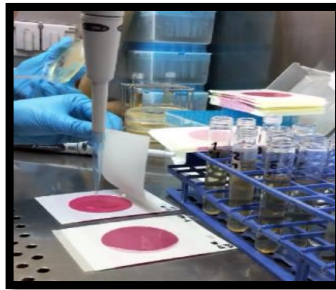
dependiendo cada etapa del proceso de recolección, (*E. coli* no se determina en la etapa de recepción por el grado de contaminación de las muestras); luego se inoculo 1mL de cada dilución en las placas 3M Petrifilm™ y se llevó a incubación a 37°C/48 horas.

Tabla 7. Diluciones de muestras tomadas para cada etapa del proceso de beneficio.

ETAPA	Dilución
Escaldado	10 ⁻² → 1:100
	10 ⁻³ → 1:1000
Desplumado	10 ⁻² → 1:100
	10 ⁻³ → 1:1000
Eviscerado	10 ⁻¹ → 1:10
	10 ⁻² → 1:100
Salida chiller	10 ⁻¹ → 1:10
Post chiller	10 ⁻¹ → 1:10

Fuente: Autor.

Figura 15. Técnica de siembra en placas 3M Petrifilm™.



Fuente: Autor

IDENTIFICACIÓN DE *Escherichia coli*: El aislamiento de coliformes fecales se logró de manera efectiva en las placas 3M Petrifilm™. Las colonias positivas para *E. coli* se presentaron de color azul violeta con producción de gas.

Estas características se presentan debido a que al darse la fermentación de la lactosa presente en el medio por parte de *E.coli* se da la producción de gas.

El medio incorpora un sustrato cromógeno (MUG), y este, al ser escindido por la enzima *B-D- Glucoronidasa* propia de *E.coli* produce una coloración azul- violeta de las colonias después de la incubación. Y se realizó el conteo de UFC (Unidades formadoras de colonias) con el contador 3M LECTOR Petrifilm™ Plate Reader, señalando la característica de las colonias de color azul con presencia de gas para *E. coli*. Los resultados obtenidos fueron comparados con la normativa vigente, para determinar si se respetan los estándares de cumplimiento para *E. coli* según la resolución 4287 del 2007.

Tabla 8. Estándares de cumplimiento para *E.coli* según resolución 4287 de 2007.

Tipo de ave	Límite inferior del rango marginal (m)		Límite superior del rango marginal (M)		Número de muestras analizadas (n)	Máximo número permitido en el rango marginal (c)
Pollo	UFC/mL	Log UFC/mL	UFC/mL	Log UFC/mL	13	3
	220	2,3424228	1500	3,176091		

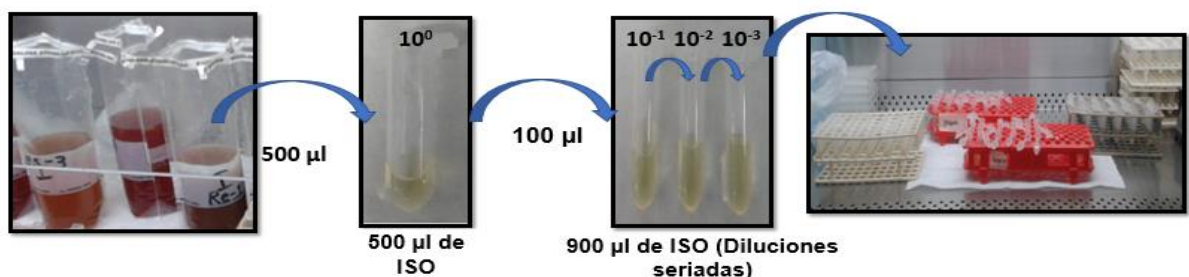
Fuente: Autor

***Salmonella* spp.**

El recuento microbiológico para determinar la presencia de *Salmonella* spp, se desarrolló en las seis etapas del proceso de beneficio, por el método de número más probable miniaturizado, basados en la norma ISO 6579:2002.

Pre enriquecimiento en medio líquido: Esta etapa de pre-enriquecimiento se realizó en agua peptona tamponada ISO con un pH de 7.0 ± 2 medio diseñado para mejorar el crecimiento y recuperación de *Salmonella* spp con un solo paso de enriquecimiento. De cada uno de las muestras de enjuagues se tomó 500 μ l y se inocularon en 500 μ l de agua peptona tamponada ISO, obteniendo el primer vial con dilución 10^0 a partir de este se realizó diluciones decimales seriadas (100:900 μ l) a una dilución máxima 10^{-3} .

Figura 16. Enjuague y diluciones decimales seriadas en agua peptona tamponada ISO de 10^0 a 10^{-3} , para pre-enriquecimiento no selectivo.



Fuente: Autor

De cada una de las diluciones se tomó una alícuota de 100 μ l y se transfirió a cada uno de los tres pozos de microplacas estériles desde la casilla A1 a A3, cada dilución en una fila posterior (ejemplo 10^0 en la fila A1-A3, 10^{-1} en la fila B1-B3...). La placa se cubrió con paraflim y se incubó a $37^\circ\text{C}/24$ horas.

Figura 17. Diluciones decimales seriadas para pre-enriquecimiento no selectivo.

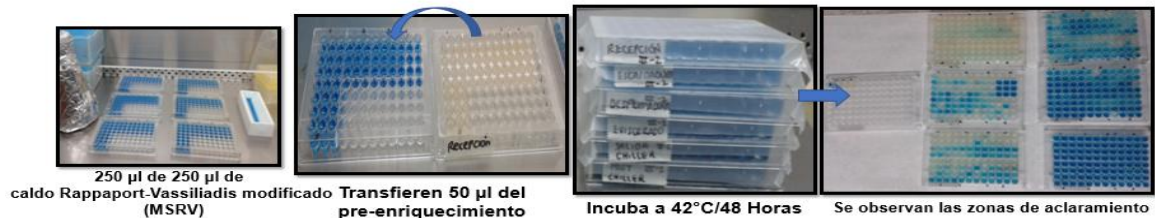


Fuente: Autor

Enriquecimiento en medio selectivo semisólido: Pasado el tiempo de incubación, se transfirió 50 µl de cada uno de los pozos respectivamente a microplacas que contenían 250 µl de caldo Rappaport-Vassiliadis modificado (MSRV); medio selectivo para la detección rápida de *Salmonella* spp móviles y se cubrió con otra placa estéril para evitar contaminación de las muestras. Se incubó a 42 °C/48 horas.

El aclaramiento del medio (inicialmente azul por el medio), se consideró como presuntamente positivo para la presencia de *Salmonella* spp.

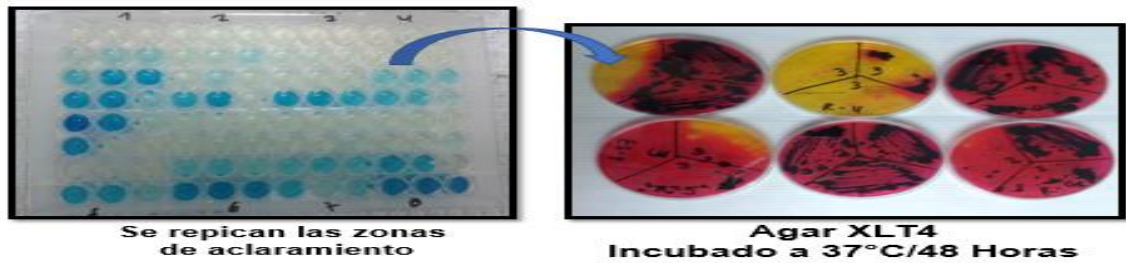
Figura 18. Enriquecimiento en caldo Rappaport-Vassiliadis modificado (MSRV).



Fuente: Autor

Aislamiento primario en medio selectivo y diferencial : Una vez transcurrido el proceso de enriqueciendo selectivo, se procedió a realizar aislamiento únicamente para los pozos en que se evidenció aclaramiento del medio en el agar selectivo-diferencial, XLT-4 (Xilosa- lisina- tergicol 4), el cual ha demostrado tener una mayor sensibilidad para la detención de Salmonelas; se dividió la caja en tres indicando la dilución presuntiva del aclaramiento con una siembra por estría en el medio, se incubó a 37°C/48 horas. En el que transcurrido este tiempo se observó la presencia de colonias, de color negro, lustrosas y brillantes de borde irregular debido a la producción de H₂S.

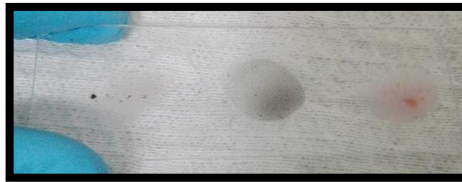
Figura 19. Crecimiento presuntivo de *Salmonella* spp.



Fuente: Autor

Confirmación mediante prueba serológica y molecular: Las muestras que presentaron un crecimiento característico de *Salmonella* spp se confirmaron mediante pruebas serológicas en el primer mes de muestreo, que permitieron la identificación adicional del microorganismo, en el que se tomó una lámina portaobjeto a la cual se le adicionó una gota de antisuero Poly- A -I & Vi (polivalente), se seleccionó una colonia característica y se mezcló, se esperó unos segundos y se observó la formación macroscópica de agregados finos que indicaron la positividad de la reacción.

Figura 20. Aglutinación en lamina de colonias de *Salmonella* (anticuerpos Poli AI + Vi).



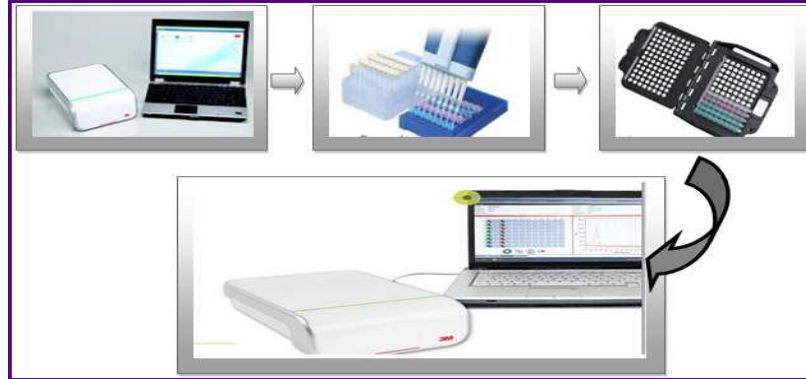
Fuente: Autor

Del mismo modo el segundo mes se confirmó *Salmonella* spp, pero por DETECCIÓN MOLECULAR POR BIOLUMINISCENCIA 3MTM.

El Sistema 3M™ de Detección Molecular, está basado en una amplificación isotérmica de ácidos nucleicos (ADN) y la detección por bioluminiscencia, esto para proporcionar una solución rápida y exacta. La detección Molecular utiliza múltiples iniciadores específicos que tienen como objetivo distintas regiones del genoma, combinados con una detección en tiempo real de la amplificación, para brindar resultados específicos y sensibles, una continua amplificación por una polimerasa de ADN de alta fidelidad única hace el sistema sea menos propenso a la interferencia de la matriz⁴⁸.

⁴⁸ 3M™ Molecular Detection Assay 2 – Salmonella Designated [en línea] disponible en: <http://eoma.aoac.org/>

Figura 21. Detección molecular por bioluminiscencia 3M™



Fuente: (3M™, 2016)

Informe de resultados de *Salmonella* spp.

Una vez obtenidos la confirmación por antisueros y molecularmente la presencia de *Salmonella* spp, se realizó la cuantificación basados en las tablas de número más probable (MPN). Ver Anexo 2.

4.9. REPRESENTACIÓN ESTADÍSTICA

Los valores de los recuentos obtenidos para cada uno de los microorganismos se promediaron y se representaron en valor de Log₁₀, para facilitar su análisis. Los resultados obtenidos se representaron como distribución durante cada una de las etapas del proceso de beneficio correspondientemente, y se les aplicó el análisis de varianza ANOVA, seguido de la prueba Tuckey para determinar la significancia en dicho análisis usando el paquete estadístico de EXCEL 2016.

Para los recuentos que tuvieron valores menores (<0,3 UFC/mL, <10 UFC/mL, <100 UFC/mL), se les dio un valor numérico de 1 con el fin de representar en Log todos los resultados.

5. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES																													
No	MES	Enero				Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio				Julio			
	SEMANAS	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
	ACTIVIDADES:																												
1	Inicio de la practica																												
2	Montaje de pruebas de control y calidad en el laboratorio																												
3	Selección del tema proyecto																												
4	Preparacion del material, ensayos preliminares y protocolo del muestreo																												
5	Inicio del proyecto de pasantia																												
6	Identificacion de puntos de muestreo y reconocimiento de la planta de beneficio																												
7	Recoleccion de informacion bibliografica																												
8	Toma de muestras en cada una de las etapas																												
9	Analisis microbiologico																												
10	Informe de resultados																												
11	Elaboracion del informe																												
12	Entrega del informe para revision en la empresa																												
13	Presentacion final del informe																												

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Sabemos que patógenos como *Salmonella* spp y *Campylobacter* spp son comensales del tracto digestivo de muchos mamíferos y especialmente de las aves. Mientras que *E. coli* es un indicador de contaminación fecal, así como de inadecuada limpieza y desinfección.

Es por esto que se van a presentar como contaminantes durante las operaciones de sacrificio de las aves, con casos de contaminación cruzada por aves infectadas y otras que no lo están, ya que por la manipulación van a existir ruptura de vísceras, siendo de importancia inicial la contaminación de la piel, con la propagación a la carne durante etapas como el eviscerado, desprese, entre otras, lo que provoca una proliferación con contaminación cruzada de patógenos en canales que son inocuas⁴⁹, por consiguiente la carne y vísceras de pollo son las responsables de numerosas intoxicaciones alimentarias en el mundo. Con factores que van de la mano en el estado inicial del ave en el proceso de beneficio y durante este, así como la adecuada limpieza y desinfección de las granjas como las plantas de beneficio, siendo factores de importancia en la prevención de riesgo para la contaminación cruzada de las canales de pollo.

Los datos correspondientes a los recuentos obtenidos del análisis cuantitativo fueron transformados a Log10 para el análisis estadístico; (Ver anexo 1, 2 y 3), se les realizó un estudio de medias para cada etapa del muestreo como lo represento las tablas 9, 13 y 17 que identificaron la concentración en UFC/mL y por consiguiente la prevalencia de los tres microorganismos (*Campylobacter* spp, *E. coli* y *Salmonella* spp) de estudio desde el inicio del proceso hasta el final del proceso evaluado donde se aplicó el desinfectante, (CECURE) además se determinó la diferencias entre las medias de las distintas etapas y se aplicó el análisis de varianza (ANOVA) representado en la tabla 10, 14 y 18 y la prueba de Tuckey representado en las tablas 11, 12, 15,16, 19 y 20 con una probabilidad de <0,05.

6.1 TRATAMIENTO DE DATOS PARA *Campylobacter* spp

Tabla 9. Resultado de la inferencia estadística por etapas para los recuentos en Log10 del crecimiento de *Campylobacter* spp.

ETAPA	Escaldadora	Desplumadora	Eviscerado	Salida chiller	Post chiller
n	97	97	97	97	97
Media	0,3	0,7	0,3	0,0	0,0

⁴⁹ INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCION SOCIAL Documentos de evaluación de riesgos para la inocuidad de los alimentos 2013

Desviación Estándar	0,6	0,9	0,6	0,1	0,0
Varianza	0,4	0,9	0,4	0,0	0,0
α	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
t	0,1	0,2	0,1	0,0	0,0
Intervalo de Confianza	(0,20 - 0,44)	(0,51 - 0,89)	(0,19 - 0,43)	(0,00 - 0,03)	(0,00 - 0,00)

La tabla 9 presenta los resultados del análisis de inferencia estadística para cada una de las etapas del proceso, especialmente el intervalo de confianza para la media. Se analizaron 97 muestras por etapa, por lo tanto, los datos muestrales adoptaron una distribución normal ($n > 45$). Con un 95% de confianza, se pudo afirmar que la media poblacional de la prevalencia de *Campylobacter* spp (en cada etapa de proceso) está dada por los intervalos de confianza de dicha tabla.

Tabla 10. Análisis de varianza de un solo factor (etapas del proceso) para *Campylobacter* spp

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	31,63	4	7,91	24,46	1,92251E-18	2,39
Dentro de los grupos	155,19	480	0,32			
Total	186,82	484				

El objetivo de este análisis de varianza de un solo factor, fue comparar las medias poblacionales de más de dos tratamientos o etapas; en este caso 5 etapas de proceso que son escaldadora, desplumadora, eviscerado, salida a chiller y post chiller. La significancia especificada para el análisis de variancia se estableció en 0.05 (5%). De este modo, desde el punto de vista estadístico, la hipótesis fundamental que se requirió probar (teniendo en cuenta que se están comparando varias etapas) fue la siguiente:

- **Hipótesis Nula:** No existen diferencias entre las medias de los recuentos en las diferentes etapas, con 95% de confiabilidad.
- **Hipótesis Alternativa:** Al menos en una de las etapas hay diferencia en las medias de los recuentos, con 95% de confiabilidad.

Con la hipótesis anterior se quiso decidir si las etapas (tratamientos) son iguales estadísticamente en cuanto a sus medias, frente a la alternativa de que al menos dos de ellos son diferentes. Para el caso de este análisis, como el estadístico Probabilidad $< 0,05$ (donde 0,05, es la significancia especificada), se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa. Debido a que se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa, se realizó el método de Tuckey, para evaluar las posibles diferencias (al menos una) entre las etapas.

Tabla 11. Resultados de la aplicación de la prueba de Tuckey para *Campylobacter* spp.

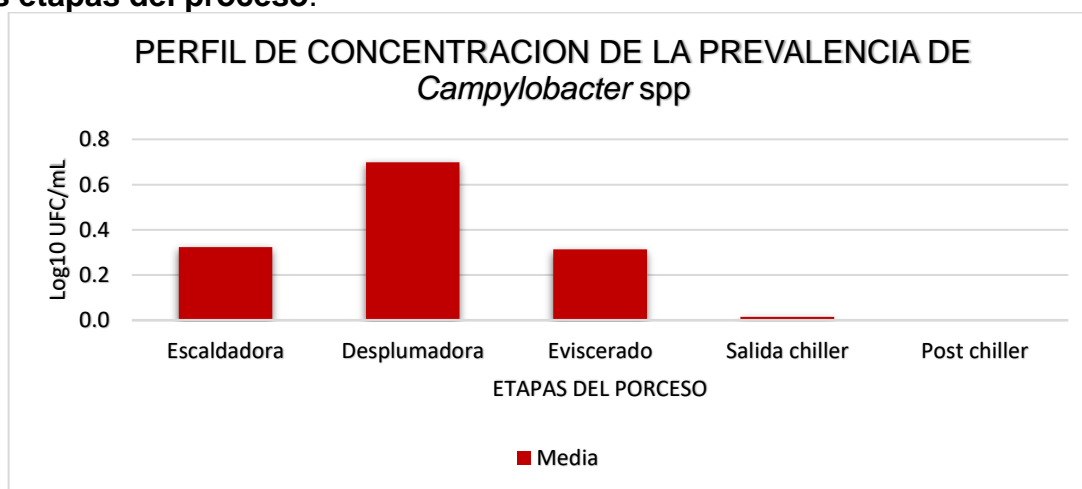
HSD		→	Diferencia Honestamente Significativa
	0,22284878		
Multiplicador (qα)	3,86	→	Valor crítico para la prueba de Tuckey. Ver Anexo
MSE	0,323	→	Cuadrado del Error Medio
n	97	→	Tamaño de los tratamientos

Tabla 12. Diferencia entre parejas de medias de Log10 UFC/mL para *Campylobacter* spp.

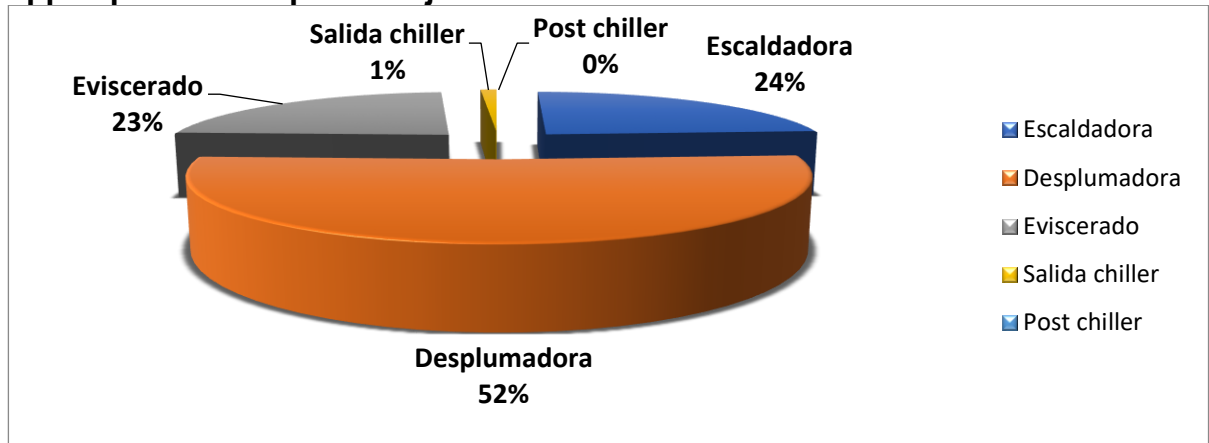
DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS DE LAS PAREJAS						
ETAPA		Escaldadora	Desplumadora	Eviscerado	Salida chiller	Post chiller
	Promedio	0,32	0,70	0,31	0,02	0
Escaldadora	0,32		0,37	0,01	0,31	0,32
Desplumadora	0,70			0,39	0,68	0,70
Eviscerado	0,31				0,30	0,31
Salida chiller	0,02					0,02
Post chiller	0					

Las tablas 11 y 12 mostraron que no hubo diferencias significativas entre las etapas de Eviscerado y Escaldadora; tampoco hubo diferencias significativas entre la salida chiller y post chiller. En las demás relaciones, si existía diferencias significativas.

Gráfica 1. Comportamiento promedio de *Campylobacter* spp en cada una de las etapas del proceso.



Gráfica 2. Comportamiento de la prevalencia del promedio de *Campylobacter* spp expresado en porcentaje.



En los muestreos realizados a *Campylobacter* spp se observó una reducción de la incidencia del patógeno, del cual se analizó, que durante las etapas del proceso mediante la técnica de enjuague de las canales la calidad microbiológica de las aves muestreadas se vio en baja concentración al inicio de las etapa (Escaldadora), con un aumento de más de la mitad para la siguiente etapa (Desplumadora) lo cual se pudo deber a una contaminación cruzada por el contacto permanente de los dedos de la desplumadora con la superficie del ave durante el masajeo, y se evidencio como un punto de control en el sistema de Analisis de Peligros y Criterio de decisión de PCC (Puntos Críticos de Control) que tiene la planta de beneficio, en el que es conveniente seguir implementando, con medidas de procedimientos de limpieza de equipos y la aplicación constante de agua propia en la operación, ya que estos ayudan a reducir el riesgo de contaminación biológica, de igual manera seguir contemplando la aplicación de ducha de red hiperclorada a la superficie de las aves al salir del desplume, finalizando con una inspección postmortem por el médico veterinario⁵⁰. En cuanto a las otras etapas del muestreo se observó una disminución de la carga del patógeno lo que indico que las operaciones y las actividades en cada una de las etapas disminuyeron la concentración a lo largo de toda la cadena de producción. En la cual el área de eviscerado emplea un sistema de limpieza semi-automático, que evita al máximo que la canal sea manipulada por los operarios, de igual manera no se evidencio contaminación cruzada, lo que indica que el control ejercido en esta etapa, identificada en el analisis de peligros y criterio de decisión de PCC de la planta, resulta ser efectivo en cuanto a la disminución de la incidencia de este patógeno.

Del mismo modo, las dos últimas áreas evaluadas, son de suma importancia ya que están destinadas para el enfriamiento y desinfección del canal, y en los muestreos

⁵⁰ SISTEMA ASEGURAMIENTO DE CALIDAD PLANTA DE BENEFICIO Y DESPRESE, AVIDESA MAC POLLO S.A Op. Cit.

no se observó ninguna contaminación, por lo que se ultimó que los procesos realizados en estas áreas se estaban cumpliendo con eficiencia. La reducción de la incidencia de campilobacteriosis en humanos está relacionada con la reducción de la prevalencia de *Campylobacter* en producción primaria y con la prevención de la contaminación cruzada a lo largo de la cadena de producción⁵¹.

Tal como lo constata el Instituto Nacional de Salud la introducción de medidas de reducción de *Campylobacter* spp en el beneficio de aves es de gran importancia ya que se presenta una disminución de 3 Log₁₀ UFC/g en el intestino o > 2 Log₁₀ UFC/canal de pollo lo cual, podría disminuir el riesgo en salud pública al menos en un 90%. Y se puede concluir que durante este muestreo la evidencia e importancia del control de los patógenos desde el origen del proceso al producto final determino la calidad del producto, así como la eficiencia de los procesos a lo largo de la cadena, (planta de alimentos, planta de incubación, granjas, planta de beneficio, almacenamiento y distribución).

6.2. TRATAMIENTO DE DATOS PARA *Escherichia coli*.

Tabla 13. Resultado de la inferencia estadística por etapa para los recuentos en Log₁₀ del crecimiento de *Escherichia coli*.

ETAPA	Escaldadora	Desplumadora	Eviscerado	Salida chiller	Post chiller
n	97	97	97	97	97
Media	3,92	3,90	2,81	1,12	0,34
Desviación Estándar	1,13	0,82	1,15	0,87	0,63
Varianza	1,27	0,67	1,32	0,76	0,40
α	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
t	0,22	0,16	0,23	0,17	0,13
Intervalo Confianza	(3,70 - 4,15)	(3,74 - 4,06)	(2,58 - 3,04)	(0,95 - 1,30)	(0,22 - 0,47)

Los resultados del análisis de inferencia estadística expresados en la tabla 13 permitieron ver el intervalo de confianza de la media para cada una de las etapas. De igual manera se analizó una cantidad de 97 muestras por etapa, por lo tanto, los datos muestrales adoptaron a una distribución normal (n>45). Con un 95% de confianza, se pudo afirmar que la media poblacional de la prevalencia de *E. coli* (en cada etapa de proceso) está dada por los intervalos de confianza de dicha tabla.

Tabla 14. Análisis de varianza de un solo factor (etapas del proceso) para *Escherichia coli*.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	765,94	4	191,49	535,37	2,1972E-175	2,39

⁵¹ INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCION SOCIAL Op. Cit.

Dentro de los grupos	171,68	480	0,358
Total	937,63	484	

PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS.

Hipótesis Nula: No existieron diferencias entre las medias de los recuentos en las diferentes etapas, con 95% de confiabilidad.

Hipótesis Alternativa: Al menos en una de las etapas hubo diferencia en las medias de los recuentos, con 95% de confiabilidad.

PRUEBA DE LA HIPÓTESIS: Como la probabilidad es $<0,05$ (donde 0,05, es la significancia especificada), se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa. Por lo que se realiza el método de Tuckey, para evaluar las posibles diferencias (al menos una) entre las etapas.

Tabla 15. Resultados de la aplicación de la prueba de Tuckey para *Escherichia coli*.

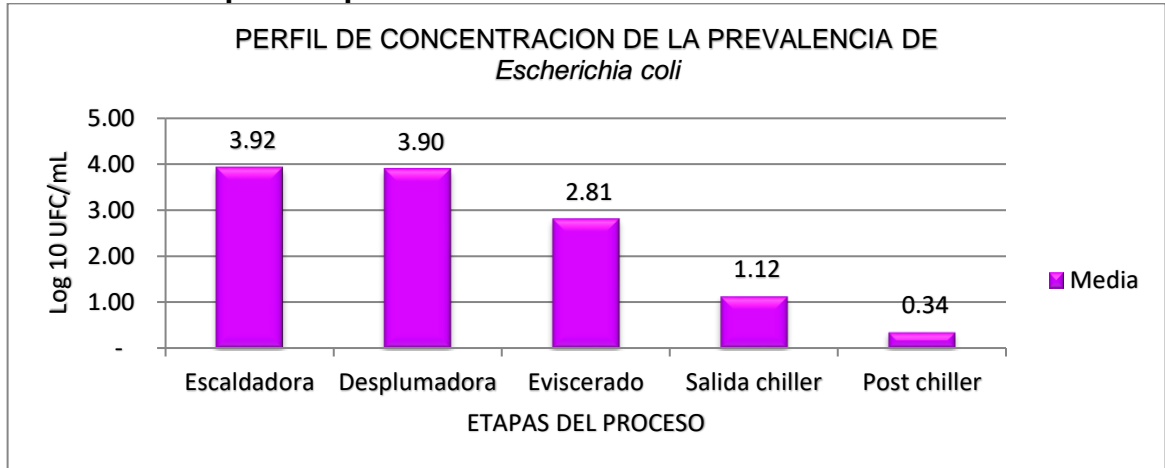
HSD	0,234	→	Diferencia Honestamente Significativa
Multiplicador ($q\alpha$)	3,86	→	Valor crítico para la prueba de Tuckey. Ver Anexo
MSE	0,358	→	Cuadrado del Error Medio
n	97	→	Tamaño de los tratamientos

Tabla 16. Diferencia entre parejas de medias de Log₁₀ UFC/mL para *Escherichia coli*.

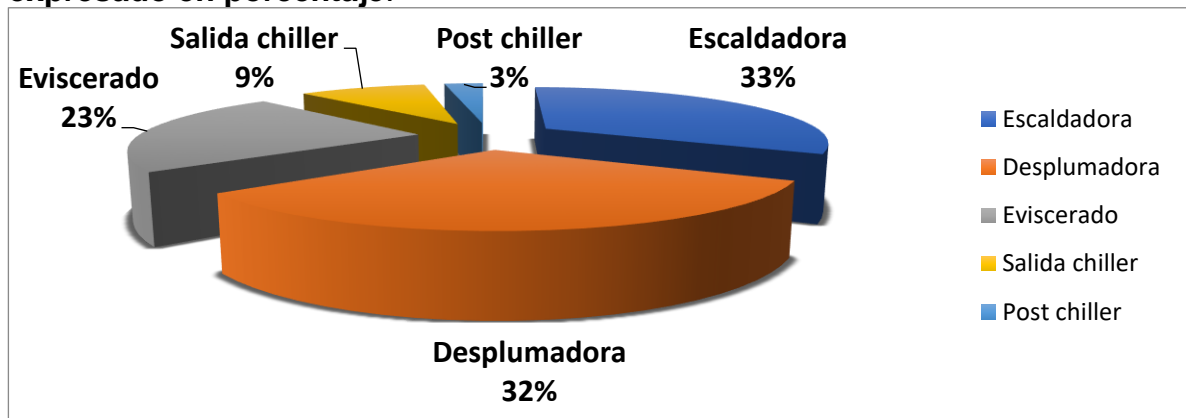
DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS DE LAS PAREJAS						
ETAPA		Escaldadora	Desplumadora	Eviscerado	Salida chiller	Post chiller
	Promedio	3,92	3,90	2,81	1,12	0,34
Escaldadora	3,92		0,02	1,11	2,8	3,58
Desplumadora	3,90			1,09	2,78	3,56
Eviscerado	2,81				1,69	2,47
Salida chiller	1,12					0,78
Post chiller	0,34					

Si, la diferencia entre las medias de parejas fue mayor que HSD, la diferencia es significativa. Para *E. coli* se determinó que hay diferencias significativas entre todas las etapas, excepto entre la etapa de Escaldadora y Desplumadora.

Gráfica 3. Comportamiento promedio de la prevalencia de *Escherichia coli* durante las etapas del proceso.



Gráfica 4. Comportamiento de la prevalencia del promedio de *E. coli* expresado en porcentaje.



Según lo estipulado en la resolución 4287 de 2007, una empresa está operando dentro de los criterios permitidos cuando los resultados más recientes de las pruebas de *E. coli* no exceden el límite superior (M) con un máximo del rango de tres en el número permitido en el rango marginal y el número de muestras que resulten positivas este en niveles por encima de (m) o menos del total de las 13 muestras (n) más recientes analizadas. (Ver tabla 8).

Por lo que en la tabla 8, se mostraron los valores del promedio de las unidades logarítmicas obtenidas por cada etapa de proceso para el recuento de *E. coli*, observándose que en la salida de dos etapas del muestreo (Escaldadora y Desplumadora) los rangos de significancia fueron mayores al límite superior con una prevalencia promedio total de Log₁₀ 3.92 y 3,90 UFC/mL por esta bacteria, en el cual no se presenta diferencias significativas en cuanto al índice de reducción, pero si hubo un nivel alto de contaminación higiénico-sanitaria. *E. coli* es un

habitante normal del tracto intestinal de las aves y los mamíferos de sangre caliente, y se utiliza comúnmente como un indicador para la manipulación higiénica de los alimentos y el procesamiento. La presencia de *E. coli* en canales de pollos implica que otros microorganismos fecales, incluyendo patógenos entéricos como *Campylobacter spp*, podrían estar presentes⁵².

Esto permitió deducir que la contaminación por este microorganismo indicador pudo resultar de igual manera en contaminación cruzada al haber inmersión múltiple de las aves en el escaldado y al pasar al desplumado se mantuvo y aunque actualmente la legislación vigente no ha establecido recuento de referencia durante el proceso de escaldado y desplumado, no se debe tomar como representativo para definir la calidad final del producto, ya que en las etapas siguientes la carga microbiana si disminuyo y se controló de manera eficiente el proceso, en los que se observó diferencias significativas hasta que finalizo el Post chiller, demostrando que los métodos de limpieza y desinfección como los de reducción de patógenos fueron efectivos en la etapa de eviscerado en el que las canales que salen de la desplumadora son sometidas a lavados antes de la evisceración y después de la misma resultando ser una medida eficiente en la disminución y el control de *E. coli*. durante las demás etapas del proceso, por tanto, las duchas de lavado permitieron remover gran parte de la contaminación bacteriana presentada en la piel de las canales, teniendo en cuenta que la carga microbiana después del lavado depende del número de bacterias presentadas antes del mismo, como la cantidad de agua utilizada y la presión del agua de la ducha lavadora⁵³.

Asegurando una buena calidad del producto terminado, con valores en Post chiller que estaban por debajo de lo establecido por la norma (Log_{10} 0,3 UFC/mL), contribuyendo con la garantía de que el consumo de este tipo de productos crudos no representa un riesgo al consumidor si son tratados de forma correcta en su preparación.

6.3 TRATAMIENTOS DE DATOS PARA *Salmonella spp*.

Tabla 17. Resultado de la inferencia estadística por etapas para los recuentos en Log_{10} del crecimiento de *Salmonella spp*.

ETAPA	Recepción	Escaldadora	Desplumadora	Eviscerado	Salida chiller	Post chiller
n	97	97	97	97	97	97
Media	0,629	0,164	0,274	0,088	0,085	0,081
Desviación Estándar	0,93	0,46	0,49	0,15	0,14	0,13
Varianza	0,87	0,22	0,24	0,02	0,02	0,02

⁵² Habib, Ihab; De Zutter, Lieven; Van Huffel, Xavier; Geeraerd, Annemie H; Uyttendaele, Mieke Potencial de *Escherichia coli* como indicador sustituto de canales de pollos postchiller con recuentos altos de *Campylobacter spp* en control de alimentos, Mayo 2012 Vol. 25 No. 1

⁵³ AVIDESA MAC POLLO Op. Cit.

α	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
t	0,19	0,09	0,10	0,03	0,03	0,00
Intervalo. Confianza	(0,44 - 0,82)	(0,07 - 0,26)	(0,18 - 0,37)	(0,06 - 0,12)	(0,06 - 0,11)	(0,08 - 0,08)

El análisis de inferencia estadística representado en la tabla 17 dejó ver los valores descendientes expresados en la media durante cada una de las etapas, con un intervalo de confianza referente al promedio que aumento para la etapa de desplumadora, debido a una contaminación cruzada. De igual manera se analizó una cantidad de 97 muestras por etapa, en la que se tomó una etapa más y diferente a los otros muestreos (Recepción), por lo tanto, a los datos muestrales se les adopto un porcentaje del 95% de confianza, y se pudo afirmar que la media poblacional de la prevalencia de *Salmonella* spp (en cada etapa de proceso) estuvo dada por los intervalos de confianza y una distribución normal ($n > 45$).

Tabla 18. Análisis de varianza de un solo factor (Etapas del proceso) para *Salmonella* spp.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	28,7510948	5	5,75021896	25,7121569	1,86756E-23	2,22966646
Dentro de los grupos	128,815569	576	0,22363814			
Total	157,566664	581				

El análisis de varianza de un solo factor, para *Salmonella* spp permitió ver el comportamiento de las medias poblacionales entre cada etapa; con un total de 6 etapas del proceso, determinado como: recepción, escaldadora, desplumadora, eviscerado, salida a chiller y post chiller. Con una significancia específica para el análisis de variancia en 0.05 (5%). Por lo que, desde el punto de vista estadístico, la hipótesis fundamental que se requirió probar (teniendo en cuenta que se comparan diferentes etapas) fue la siguiente:

Hipótesis Nula: No existió diferencias entre las medias de los recuentos en las diferentes etapas, con 95% de confiabilidad.

Hipótesis Alternativa: Al menos en una de las etapas hubo diferencia en las medias de los recuentos, con 95% de confiabilidad.

Como la probabilidad $< 0,05$ (donde 0,05, es la significancia especificada), se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la hipótesis alternativa. Y se procedió a realizar el método de Tuckey, para evaluar las posibles diferencias (al menos una) entre las seis etapas.

Tabla 19. Resultados de la aplicación de la prueba de Tuckey para *Salmonella* spp.

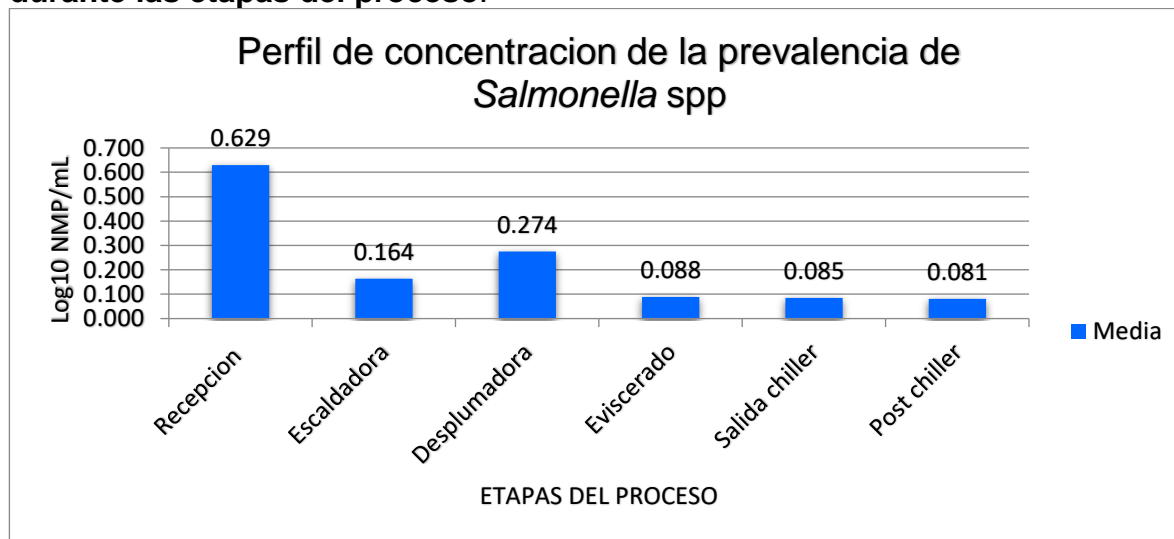
HSD	0,194	→	Diferencia Honestamente Significativa
Multiplicador (qα)	4,03	→	Valor crítico para la prueba de Tuckey. Ver Anexo
MSE	0,224	→	Cuadrado del Error Medio
n	97	→	Tamaño de los tratamientos

Tabla 20. Diferencia entre parejas de medias de Log10 NMP/mL para *Salmonella* spp

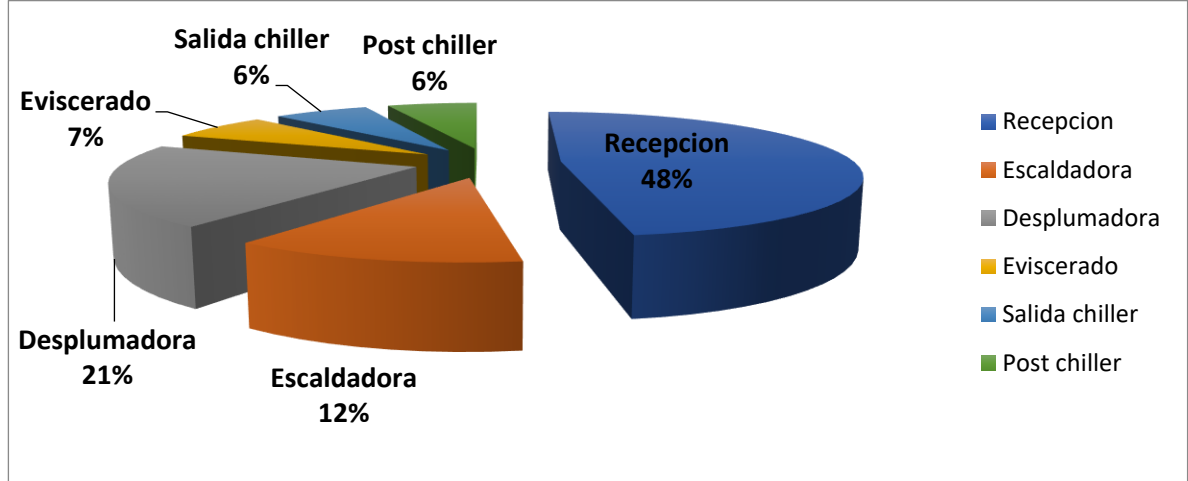
DIFERENCIA ENTRE LAS MEDIAS DE LAS PAREJAS							
ETAPA		Recepción	Escaldadora	Desplumadora	Eviscerado	Salida chiller	Post chiller
		0,62942862	0,1639528	0,23413165	0,00573508	0,01065385	0
Recepción	0,62942862		0,46	0,39	0,62	0,61	0,62
Escaldadora	0,1639528			0,07	0,158	0,153	0,16
Desplumadora	0,23413165				0,228	0,223	0,23
Eviscerado	0,00573508					0,004	0,005
Salida chiller	0,01065385						0,01
Post chiller	0						

La tabla 20 puso en evidencia que *Salmonella* spp es el microorganismo que en la prueba de Tuckey mostro más diferencias no significativas entre las etapas de Escaldadora y cada una de las etapas subsiguientes, al igual que entre Eviscerado y Salida chiller y Salida chiller y Post chiller, teniendo como referencia la diferencia honestamente significativa (HSD) de 0,194, en lo que la comparación de etapa con etapa antes mencionadas mantuvo valores menores al HSD catalogándose como no significativas. En las demás relaciones de las etapas si existió diferencias significativas.

Gráfica 5. Comportamiento promedio de la prevalencia de *Salmonella* spp durante las etapas del proceso.

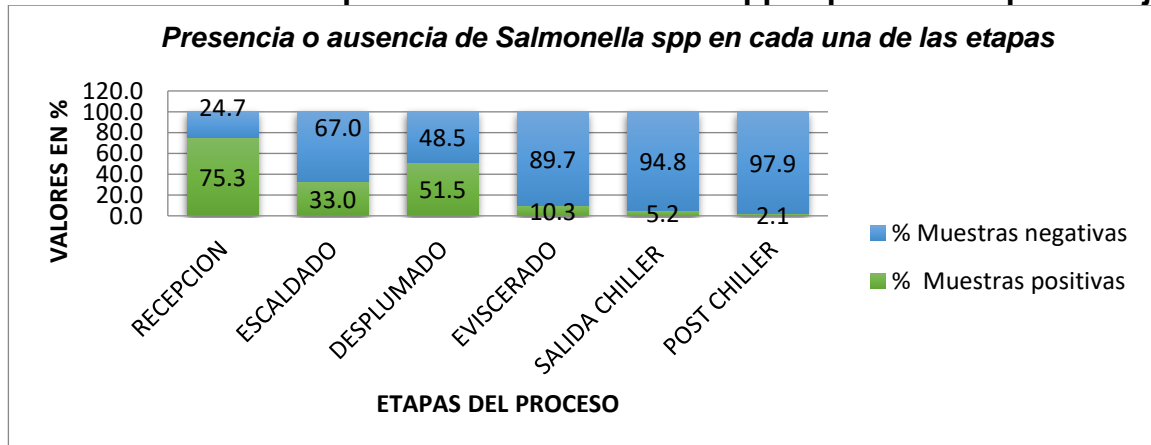


Gráfica 6. Comportamiento de *Salmonella* spp expresado en porcentaje.



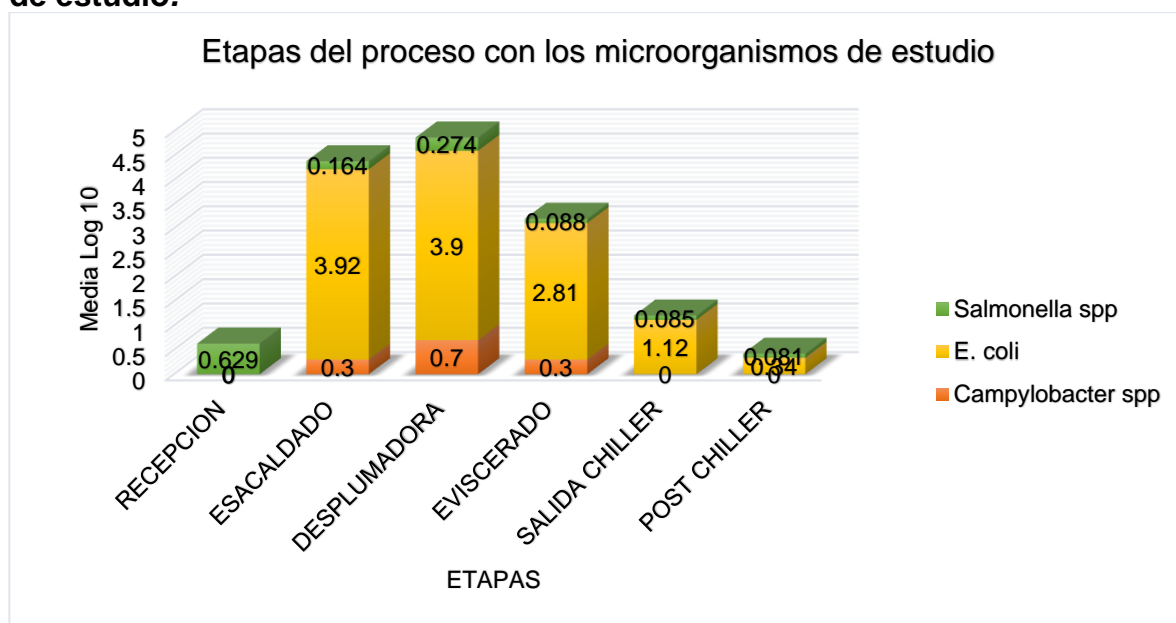
El perfil de concentración de la prevalencia de *Salmonella* spp permitió observar que hubo un descenso de la carga de este patógeno en cada una de las áreas del proceso de beneficio de las aves, constatado de una mejor manera en la gráfica 5 del comportamiento del mismo, con una distribución diversa en cada una de las etapas estudiadas, y observándose un aumento en la etapa de desplumado con poca significancia ya que en esta etapa se pudo presentar contaminación cruzada por el proceso que va sufriendo el pollo durante el masajeo con los dedos de la desplumadora. La distribución nos permitió relacionar de forma directa como se encontro el nivel de contaminación microbiológica en cada una de las etapas muestreadas, resultando ser positivas para este microorganismo en un 48% para la etapa de recepción y mostrando descendencia por cada etapa, en el que se hace hincapié en la desplumadora, pero no interfirió en la disminución de las etapas subsiguientes hasta que se llegó a un valor de 6% al final de la etapa del desinfectante CECURE.

Gráfica 7. Ausencia o presencia de *Salmonella* spp expresado en porcentaje.



De 582 muestras de canales de pollo analizadas se encontró a *Salmonella spp* en 172 expresada con un 29.6% del total de las muestras; en los que se analizó la prevalencia del patógeno en cada una de las etapas, se obtuvo una disminución significativa entre etapas como recepción-escaldado y desplumado-eviscerado y las etapas subsiguientes terminando con un 2.1% de prevalencia en la última etapa del proceso, de igual manera se detectaron los valores máximos de prevalencia desde la recepción de las aves lo que es de esperar ya que sabemos ella es habitante natural de las aves y van a estar comúnmente asociados con las enfermedades de tipo alimentario con un porcentaje de 35,1% de las enfermedades, mientras que *Campylobacter spp.*, es responsable de 72%⁵⁴

Gráfica 8. Comparativo de las etapas del proceso con cada microorganismo de estudio.



La grafica 8 permitió evidenciar la etapa del proceso en el cual se producía un mayor nivel de contaminación con estos microorganismos, y como se comportaron a través del proceso de beneficio, en el que se determinó la etapa desplumadora como la de mayor contaminación de los patógenos de estudio. Y es esta etapa el principal punto de contaminación cruzada, tanto por microorganismos fecales como procedentes de la piel, plumas y suelo, siendo importante por lo que se refiere a la contaminación

⁵⁴ NAGEL GM, BAUERMEISTER LJ, BRATCHER CL, SINGH M , MCKEE SR *Salmonella* y *Campylobacter* reducción y calidad características de canales de aves tratadas con diversos agentes antimicrobianos en un tanque de inmersión post-enfriamiento International Journal of Food Microbiology Volumen 165, número 3, 2013 páginas 281-286

con *Pseudomonas* spp, *Clostridium* spp, *Campylobacter* spp, *E. coli* y *Salmonella* spp⁵⁵

La presencia y desarrollo de bacterias patógenas en los folículos de las plumas es muy importante, sin embargo, el papel de las plumas en la contaminación bacteriana de las canales no se limita a los folículos. Las mismas plumas tienen una gran población bacteriana al ingreso a la planta de proceso. Además, se debe tener en cuenta al evaluar esta etapa el tamaño de la canal, la topografía de la piel y el tamaño relativo de las bacterias, por lo que existen muchos sitios en una canal para que las bacterias se adhieran y/o permanezcan atrapadas⁵⁶

Es indiscutible la necesidad de eliminar todas las plumas de la canal, sin embargo, en la mayoría de las plantas se presenta un uso excesivo de la maquina desplumadora, en la que la mayoría de las plumas se retiran en los primeros 10 segundos de proceso, pero las canales permanecen dentro de la desplumadora 30 segundos o más. Este exceso asegura el retiro total de las plumas, pero por otro lado aumenta la posibilidad de generar contaminación cruzada y daños en la piel de la canal.⁵⁷

Un estudio en el 2001 reporto que cualquier exceso innecesario de desplume puede aumentar la posibilidad de contaminación fecal, debido a que las bacterias fecales escapan del tracto intestinal, posiblemente debido a la presión excesiva que ejercen los dedos de goma desplumadores⁵⁸.

Con los resultados estadísticos obtenidos se quiso también evaluar la calidad bacteriana de las aves desde las granjas que fueron seleccionadas al azar durante los muestreos y que nunca se repitieron, estos datos se trataron teniendo como referencia solo la primera etapa de cada muestreo y de esta manera se obtuvo estadísticamente el promedio de los recuentos y se graficó, otros parámetros que se obtuvieron para el análisis de los datos fue saber a qué zona pertenece la granja que presento los valores de contaminación mayor y de esta manera se tuvo un reporte para la planta y constata si estas tenían relación entre sí, para tomar las medidas adecuadas desde la granja con los programas de limpieza y desinfección. (Ver Anexo 4,5 y 6)

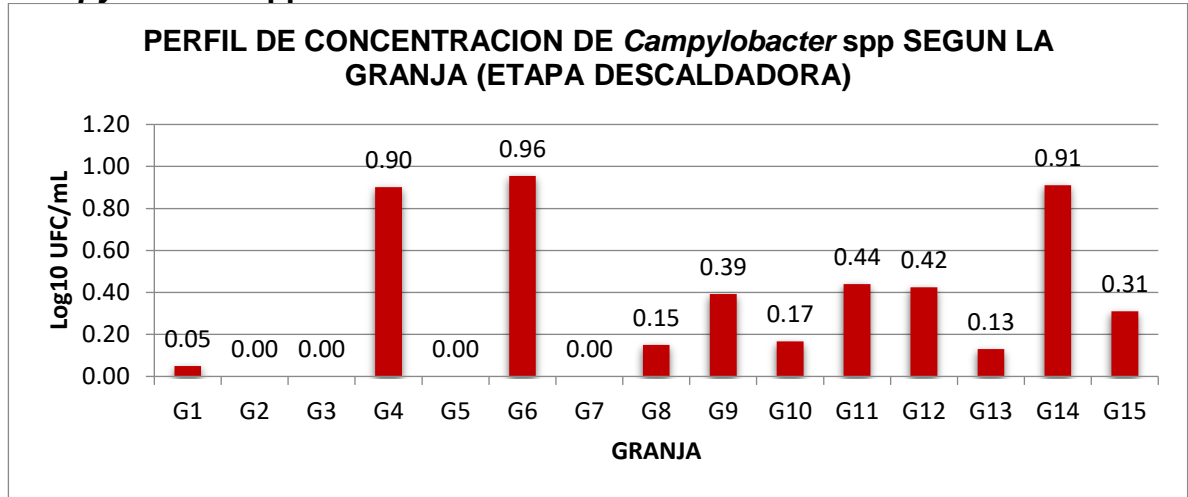
⁵⁵ GALINDO, RICAURTE Sandra Lissette Problemas del pollo de engorde antes y después del beneficio - pollo en canal Revista Electrónica de Veterinaria REDVET 2005 pp. 1-3

⁵⁶ PEREZ, Rivera Walter Identificación y diagnóstico de los puntos de la línea de procesamiento que generan riesgo de contaminación con *Salmonella* spp en una planta procesadora de pollo: presencia, cuantificación y serotipificación del patógeno Costa Rica 2012

⁵⁷ *Ibíd.*

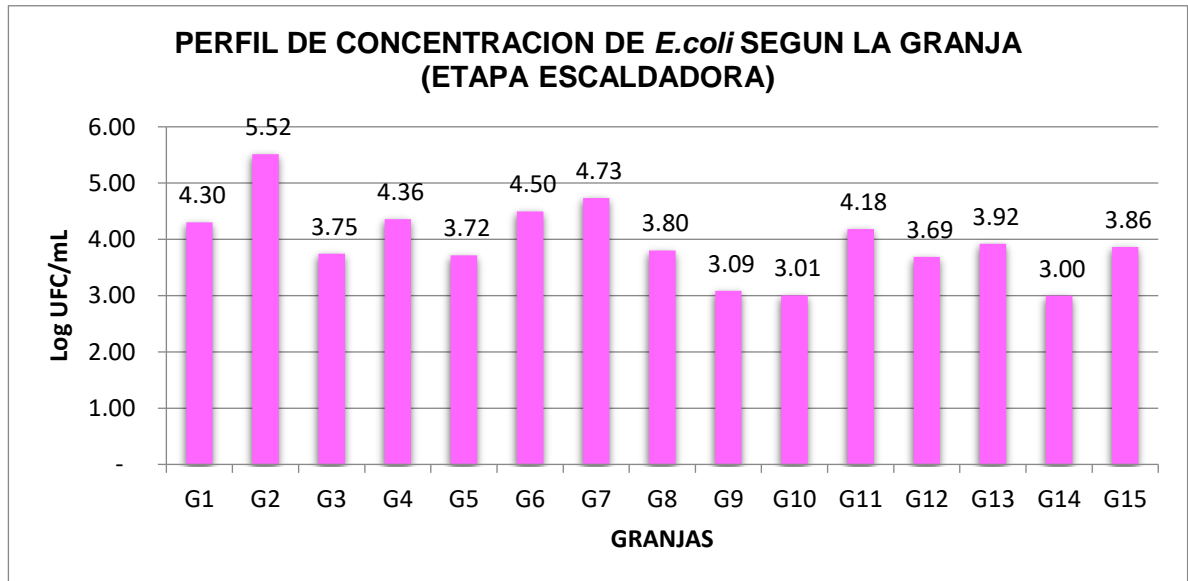
⁵⁸ BAILEY, J; STERN, N.J; FEDORKA, P; CRAVEN, S; COX, N; COSBY, D; LADELY, S; MUSGROVE, M Sources and movement of *Salmonella* through integrated poultry operations: A multistate epidemiological investigation J. Food Prot. 2001 64(11) : 1690-1697

Gráfica 9. Perfil del estado inicial del pollo en la etapa escaldadora para *Campylobacter* spp.



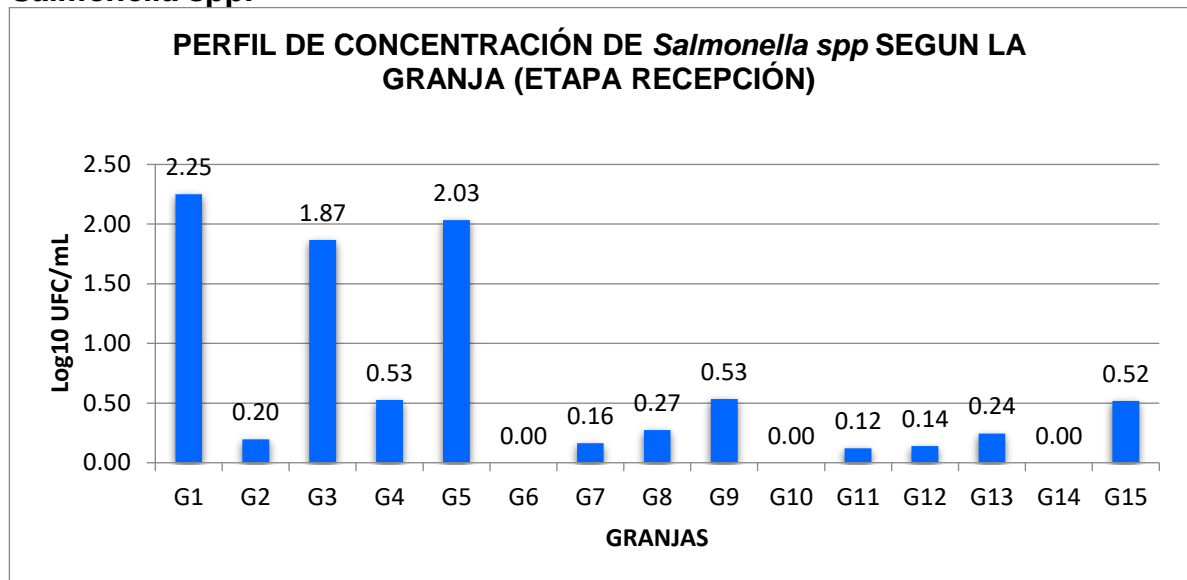
El grafico 9 permitió evidenciar que de las quince granjas muestreadas cuatro se encontraron sin contaminación por parte de *Campylobacter* spp, y la que presento mayor grado de contaminación en las aves fue la granja 6 que provenía de la zona La mesa, con una prevalencia de 0,96 Log10 UFC/mL, de igual manera se pudo constatar que la carga microbiana durante los muestreos no supero la unidad logarítmica presentando valores por debajo de 1 Log10 UFC/mL. Las granjas en las que no se encontró diferencia honestamente significativa (HSD) fue la granja 10 con la 14, granja 11 con 13, 14 y 15 y granja 12 con 13, mostrando valores por encima del valor de HSD expresado como 1.08.

Gráfica 10. Perfil del estado inicial del pollo en la etapa escaldadora para *Escherichia coli*.



Los resultados expresados en el grafico 10 para *E. coli* demostraron que la granja que presento mayor contaminación fue la numero 2 y la de menor fue la 14, evidenciando que en todas la concentración se mantuvo con un mínimo de 3,0 Log10 UFC/mL y máximo que casi alcanzo a superar dos veces el valor mínimo, los valores de las medias de las granjas que superaron el valor de las diferencias honestamente significativas fueron la granja 2 con la 3, 5, 8, 9, 10, 12, 14 y 15, al igual que la granja 7 con 9, 10 y 14, finalizando con la granja 11 con la 14 y 15, con valores de DSH superiores a 1,60.

Gráfica 11. Perfil del estado inicial del pollo en la etapa de recepción para *Salmonella* spp.



En cuanto a *Salmonella* spp se pudo evidenciar en el grafico 11 que tres granjas no presentaron contaminación inicial por este patógeno (Granja 6, 10 y 14) y la que presento mayor contaminación fue la granja 1 con un valor de 2,25 Log10 UFC/mL.

Los valores de la diferencia honestamente significativa para *Salmonella* spp en las granjas fue de 1,04, en la que una cantidad mayor de granjas en comparación con los otros microorganismos de estudio sobrepasaron dicho valor, no presentando diferencia significativa en al menos una de las medias de los recuentos, con 95% de confiabilidad. Estas granjas fueron la granja 1 con 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15; granja 2 con 3 y 5; la granja 3 con 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15; la granja 4 con la 5; granja 5 con 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14 y 15; la granja 10 con la 14; granja 11 con 13, 14 y 15 y la granja 12 con la 13.

En general las aves procedentes de las diferentes granjas ingresaron con una carga baja de *Salmonella* spp, indicando el excelente control que se ejerce en las granjas para evitar y disminuir la incidencia de esta patógeno.

7. CONCLUSIONES

Por medio de este trabajo se pudo garantizar la efectividad del control que se hace a las aves con los programas de reducción de patógenos desde las diferentes áreas para avalar un producto con altos estándares de calidad e inocuidad que no representa ningún riesgo al producto final.

Se logró cuantificar la presencia de los microorganismos de estudio con la media poblacional a través del proceso de beneficio de las aves en cada una de las áreas, donde *Campylobacter* spp al final de la etapa del proceso no presentó prevalencia (0%) *Escherichia coli* (3%) y *Salmonella* spp, (6%) con ausencia de 97% y se encontró recuentos variables dependiendo del área de análisis.

Las etapas de escaldado y desplume presentaron la mayor incidencia de los patógenos de estudio, clasificándose como las etapas de mayor riesgo de contaminación cruzada durante el proceso.

Las etapas salidas chiller y post chiller determinaron que se está cumpliendo con los programas de reducción de patógenos evidenciando que hubo un descenso significativo de la carga microbiana y que de esta manera se garantiza un producto inocuo.

La contaminación fecal observada en la etapa recepción no represento un riesgo significativo para el producto final, ya que fue posible controlarlo mediante la desinfección a pesar de demostrar un alto nivel del indicador *E. coli* en las etapas siguientes del proceso.

Los criterios microbiológicos a objetos de estudios son herramientas útiles para verificar la calidad, producción y procesamiento de las aves, así como la higiene sanitaria durante el procesamiento de los mismos, en el que se puede argumentar un juicio posible para patógenos como *Campylobacter* spp y *Salmonella* spp basándose en datos cuantitativos con límites, en lugar de solamente la presencia/ausencia de pruebas.

Finalmente se comprobó que los procedimientos empleados en el estudio resultaron ser efectivo en cuanto a la identificación y reducción de microorganismos contaminantes y patógenos como *Campylobacter* spp, *E. coli* y *Salmonella* spp, lo cual indico que las técnicas de aseguramiento de la calidad, así como la mejora constante implementadas, siguen los parámetros de cada norma.

8. RECOMENDACIONES

Es necesario investigar adicional para evaluar otros posibles factores de riesgo en las granjas y en las variaciones que pueden contribuir a las diferencias en la prevalencia y las concentraciones de los agentes estudiados.

Emplear, técnicas de aseguramiento de la calidad implementadas para tal proceso con duchas de lavado posterior al proceso de desplumadora, que permita la limpieza de residuos fecales presentes en las canales, a fin de disminuir la contaminación cruzada.

Realizar muestreos por lo menos una vez al mes durante todo un año en cada una de etapas analizadas, especialmente de las que presentaron mayor contaminación, de manera que se pueda controlar más la contaminación cruzada y verificar la eficiencia del proceso de beneficio de aves, para cada microorganismo como indicadores de la efectividad del plan HACCP en el control de patógenos .

BIBLIOGRAFÍA

AMÉZQUITA, Alejandro; ESTRADA, Carolina; GONZALEZ, Sonia HACCP - Un enfoque sistemático para la inocuidad alimentaria Estados Unidos: Grocery Manufacturers Association Washington, D.C 2008

AVIDESA MAC POLLO Plan de saneamiento Interno, Puntos críticos de control Floridablanca 2017

AVIDESA MAC POLLO Programa de reducción de patógenos- sistema HACCP 2017

AVIDESA MAC POLLO S.A Programa de reducción de patógenos 2017. MARCO LEGAL: Decreto 1500 de 2007, Resolución 4287 de 2007, Resolución 2690 de 2015, CFR 9, Pathogen Reduction/HACCP, FSIS/USDA, Estados Unidos.

AVIDESA MAC POLLO S.A Sistema aseguramiento de calidad planta de beneficio y desprese, Analisis de peligros y criterio de decisión de PCC para pollo entero, presas 2017

BAILEY, J; STERN, N.J; FEDORKA, P; CRAVEN, S; COX, N; COSBY, D; LADELY, S; MUSGROVE, M Sources and movement of Salmonella through integrated poultry operations: A multistate epidemiological investigation J. Food Prot. 2001 64(11) : 1690-1697

BASTIDAS, Yesid Eduardo Avicultura. Consultado [marzo 28 de 2017] [en línea] disponible en: <http://lasgallinitas.blogspot.com.co/>

BOHORQUEZ ARÉVALO, Víctor David Perspectiva de la producción avícola en Colombia Bogotá 2014

BOTERO, HOYOS Luis Alberto Actualidades Sobre salmonelosis aviar. Consultado [abril 5 de 2017] [en línea] disponible en: <http://www.engormix.com/avicultura/articulos/salmonellosis-control-t27074.htm>

BUCKOWA Roman, BINGHAMB John, DAGLASB Susie, LOWTHERB Sue, AMOS-RITCHIEB Rachel, MIDDLETONB Deborah High pressure inactivation of selected avian viral pathogens in chicken meat homogenate . En: Food Control 2017 pp. 215-222

CARRO PAZ, Roberto; GONZALEZ GOMEZ, Daniel Normas HACCP Sistema de Analisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control. Consultado [abril 3 de 2017] [en línea] disponible en: http://nulan.mdp.edu.ar/1616/1/11_normas_haccp.pdf

CASTILLO, GUTIERREZ Adriana del Carmen; MARTINEZ, PAASCH Leopoldo Henri; CALDERON, APODACA Norma Leticia Salmonelosis y campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo En: Scielo Vol. 39 No. 1 2008

CRESA Salmonelosis. Consultado [marzo 28 de 2017] [en línea] disponible en: <http://www.cresa.es/granja/salmonelosis.pdf>

DIAZ, AGUILERA María Determinantes del desarrollo en la avicultura en Colombia: Consultado [abril 3 de 2017] [en línea] disponible en: http://www.banrep.gov.co/docum/Lectura_finanzas/pdf/dtser_214.pdf

ECHEVERRÍA MACHACADO, Sindy Marcela Prevalencia de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp Y *Campylobacter jejuni* Floridablanca: 2013

EL SITIO AVÍCOLA Análisis De la industria avícola colombiana que vuela alto Consultado [abril 3 de 2017] [en línea] disponible en: <http://www.elsitioavicola.com/poultrynews/32152/analisis-de-la-industria-avicola-colombiana-que-vuela-alto/>

FAO, ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA Aves de corral y productos avícolas: riesgos para la salud humana En: REVISIÓN DEL DESARROLLO AVÍCOLA 2013 pp. 14-16

FERNANDEZ, Catalina Genética, un mercado que fortalece al sector avícola En: Agronegocios, núm 101 2014 pp. 16-17

GALINDO, RICAURTE Sandra Lissette Problemas del pollo de engorde antes y después del beneficio - pollo en canal Revista Electrónica de Veterinaria REDVET 2005 pp. 1-3

GARCÍA, PUERTA A; RODRÍGUEZ, Mateos F Enterobacterias. Consultado [abril 5 de 2017] [en línea] disponible en: http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf

GUITIERREZ, M HACCP (Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control) para el aseguramiento de la calidad del yogurt en la empresa de productos lácteos Leito Tesis Ing. Industrial en Procesos de Automatización 2013 p. 6

GUZMÁN, E; RODRÍGUEZ, A; OTERO, M; MORENO, O. El Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP) como instrumento para la reducción En: Revista Electrónica de Veterinaria. Vol. 62005 pp. 1-14

HABIB, Ihab; DE ZUTTER, Lieven; VAN HUFFEL, Xavier; Geeraerd, Annemie H; Uyttendaele, Mieke Potencial de *Escherichia coli* como indicador sustituto de canales de pollos postchiller con recuentos altos de *Campylobacter* spp en control de alimentos, Mayo 2012 Vol. 25 No. 1

INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS Y CERTIFICACIONES NTC 3644-2 Industrias alimentarias. Pollo beneficiado Bogotá: ICONTEC 1998 Consultado [abril 5 de 2017] [en línea] disponible en: <http://www.analisisambiental.com.co/wp-content/uploads/2014/02/NTC-3644-2.pdf>

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCION SOCIAL Documentos de evaluación de riesgos para la inocuidad de los alimentos 2013

3M™ Molecular Detection Assay 2 – *Salmonella* Designated Consultado [marzo 28 de 2017] [en línea] disponible en: <http://eoma.aoac.org/>

MALBRÁN, CARLOS G Manual de procedimientos, *Campylobacter* Buenos Aires: Subsecretaría de Investigación y Tecnología. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. 2001

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL Resolución Número 2690 De 2015 (24 Julio 2015) Por la cual se establecen las directrices para la formulación del Programa de Verificación Microbiológica del Sistema Oficial de Inspección, Vigilancia y Control de la Carne y Productos Cárnicos Comestibles Consultado [abril 5 de 2017] [en línea] disponible en: http://biblioteca.saludcapital.gov.co/img_upload/03d591f205ab80e521292987c313699c/resolucion-2690-de-2015.pdf

MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL Decreto 1500 de 2007 (mayo 4) por el cual se establece el reglamento técnico a través del cual se crea el Sistema Oficial de Inspección, Vigilancia y Control de la Carne, Productos Cárnicos Comestibles y Derivados Cárnicos, destinados para el Consumo Humano y los requisitos sanitarios y de inocuidad que se deben cumplir en su producción primaria, beneficio, desposte, desprese, procesamiento, almacenamiento, transporte, comercialización, expendio, importación o exportación. Consultado [abril 5 de 2017] [en línea] disponible en: https://www.invima.gov.co/images/stories/aliimentos/Decreto1500_2007.pdf

MORENO CALDERON Kelly Determinación y cuantificación de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp como medida de verificación para la reducción de la contaminación microbiológica generada en procesos de sacrificio de aves Pamplona 2010

MORENO, C. K. Determinación y cuantificación de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp como medida de verificación para la reducción de la contaminación microbiológica generada en procesos de sacrificio de aves. Pamplona. 2010

NAGEL GM, BAUERMEISTER LJ, BRATCHER CL, SINGH M , MCKEE SR Salmonella y Campylobacter reducción y calidad características de canales de aves tratadas con diversos agentes antimicrobianos en un tanque de inmersión post-enfriamiento International Journal of Food Microbiology Volumen 165, número 3, 2013 páginas 281-286

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCION SOCIAL Documentos de evaluación de riesgos para la inocuidad de los alimentos 2013

OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD Campylobacter spp y *Salmonella* spp Consultado [abril 3 de 2017] [en línea] disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/es/>

OMS, Organización Mundial de la Salud *Campylobacter* spp. Consultado [abril 3 de 2017] [en línea] disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/es/>

OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD *E. coli*. Consultado [abril 3 de 2017] [en línea] disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>

OMS, ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD Salmonelosis- Estados Unidos de América. Consultado [abril 3 de 2017] [en línea] disponible en: <http://www.who.int/csr/don/28-april-2016-Salmonelosis-usa/es/>

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO) Código de prácticas de higiene para la carne. Consultado [abril 3 de 2017] [en línea] disponible en: www.fao.org/input/download/standards/10196/CXP_058e.pdf

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD., ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN Código de prácticas de higiene para la carne Roma 2009

PEREZ, Rivera Walter Identificación y diagnóstico de los puntos de la línea de procesamiento que generan riesgo de contaminación con *Salmonella* spp en una planta procesadora de pollo: presencia, cuantificación y serotipificación del patógeno Costa Rica 2012

RAMIREZ MORETA, Willington David Prevalencia y cuantificación de *Salmonella* spp y *Escherichia coli* en carne de pollo a la venta en Tegucigalpa Zamorano, Honduras 2015

RAMÍREZ, R.M, Almanza, Y.C Detección de moléculas asociadas a la patogenicidad de *E. coli* aviar XII JORNADAS DE INVESTIGACIÓN, Revista Investigación Científica, Vol. 4 No. 2 2008 pp. 1-2

RODRIGUEZ, M Fuente de contaminación en granjas-*Salmonella* aviar Consultado [abril 24 de 2017] [en línea] disponible en: <https://es.slideshare.net/lvanGonzalez80/salmonella-aviar-1>

ROJAS,. Sandra Sistema HACCP 2017 mayo 19

SILVA, Julia; RECAVARREN, Mariana; WILLIAMS, Karen Detección de bacterias patógenas productoras de Enfermedades Transmitidas por Alimentos en carne aviar Consultado [abril 25 de 2017] [en línea] disponible en: [http://ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/548/Silva%2c%20Julia%20-%20Facultad%20de%](http://ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/548/Silva%2c%20Julia%20-%20Facultad%20de%20)

www.fao.org/docrep/v9723t/v9723t0g.htm. Consultado [abril 3 de 2017]