



**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS PRODUCTOS  
CÁRNICOS, PROCESOS DE LIMPIEZA E HIGIENE EN OPERARIOS EN LA  
INDUSTRIA CÁRNICOS CASA BLANCA, MEDELLÍN- ANTIOQUIA.**

**MILEIDY PALOMINO GARCIA**  
Programa microbiología

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS, DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA**  
**PAMPLONA, NORTE DE SANTANDER**  
**2017**

**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE LOS PRODUCTOS  
CÁRNICOS, PROCESOS DE LIMPIEZA E HIGIENE EN OPERARIOS EN LA  
INDUSTRIA CÁRNICOS CASA BLANCA, MEDELLÍN- ANTIOQUIA.**

**MILEIDY PALOMINO GARCIA  
COD: 1049025791  
Programa microbiología**

**TRABAJO DE GRADO  
PRESENTADO COMO REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE  
MICROBIÓLOGA**

**Tutor empresarial  
Dayana Paola Zarate  
Tutor académico:  
Claudia Marina Clavijo Olmos PhD.**

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA  
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS, DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA  
PAMPLONA**

**2017**

**Nota de aceptación**

---

---

---

---

---

**Tutor académico**

---

**Jurado**

---

**Jurado**

**Pamplona, 2017**

## **Dedicatoria.**

*Este logro está dedicado a la mujer más maravillosa del mundo Mariela Garcia Garcia quien con su amor, dedicación y esfuerzo logró darme ejemplo de superación, entrega, perseverancia y fortaleza para salir adelante, venciendo cada obstáculo que surgía durante el periodo de aprendizaje.*

## Agradecimientos

*Primeramente, agradezco a Dios por darme la oportunidad de vivir y crecer profesionalmente, por darme la fortaleza de avanzar durante todo el camino y nunca dejarme sola en los momentos de desánimo, dificultades y tristeza.*

*A mis padres:*

*Mariela por ser mi motivación, por tanto, esfuerzo, por tanto amor, por tanta perseverancia y sobre todo por ser mi motor durante cada etapa de mi vida.*

*Reinaldo Palomino porque a pesar de las dificultades ha aportado mucho en mi trayecto de formación profesional.*

*A mi hermano Yamid Palomino por confiar en mis capacidades y darme la oportunidad de empezar mis estudios, a mis hermanas especialmente a Yarledy Palomino por apoyarme, animarme y darme razones para continuar.*

*A la profesora Claudia Clavijo por su debida orientación durante la realización de este trabajo.*

*A Gabriel Prieto y Andrea Luna por su apoyo incondicional y orientación en mi proceso de pasantía industrial, mil gracias por tanta ayuda.*

*A la industria cárnicos Casablanca en cabeza de mi jefe inmediato Dayana Paola Zarate por brindarme la oportunidad de realizar mis pasantías en este lugar y guiarme profesionalmente.*

# CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN.....	13
2. JUSTIFICACIÓN.....	15
3. OBJETIVOS.....	16
3.1 Objetivo general .....	16
3.2 Objetivos específicos.....	16
4. MARCO TEÓRICO .....	17
4.1 MARCO REFERENCIAL .....	17
4.2 MARCO CONCEPTUAL.....	17
4.2.1 Producción mundial y nacional .....	17
4.2.2 Calidad de la carne .....	18
4.2.3 Sistema de Detección Molecular 3M™ .....	21
4.3 MARCO LEGAL.....	21
4.4 REPORTES INTERNACIONALES Y NACIONALES.....	22
5. METODOLOGÍA.....	24
5.1 PREPARACIÓN DEL MATERIAL DE LABORATORIO.....	24
5.1.1 Medios de cultivo .....	24
5.2 VIDA ÚTIL DE PRODUCTOS.....	27
5.2.1 Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella</i> spp. ....	27
5.2.2 Recuento de Aerobios mesófilos, Bacterias ácido lácticas y <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
5.2.3 Esporas de <i>Clostridium</i> sulfito reductor.....	29
5.2.4 Coliformes Totales y Coliformes Fecales.....	29
5.3 Análisis microbiológico de producto terminado.....	30
5.4 CONTROL INTERNO DE PLANTA .....	31
5.4.1 Análisis ambiental .....	31
5.4.2 Control de manipuladores .....	32
5.4.3 Superficies del área de Empaque.....	33
5.4.4 Análisis microbiológico de aguas.....	33
5.5 Análisis de materia prima cárnica .....	34
6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES .....	35

7.	RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	36
7.1	VIDA ÚTIL DE PRODUCTOS.....	36
7.2	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PRODUCTO TERMINADO.....	38
7.2.1	Recuento de microorganismos aerobios mesófilos.....	38
7.2.2	Recuento de bacterias mesofílicas de ácido láctico, <i>Staphylococcus aureus</i> y esporas de <i>Clostridium</i> sulfito reductor. ....	39
7.2.3	cuento de Coliformes Totales y <i>Escherichia coli</i> .....	41
7.2.4	Detección de patógenos en producto terminado.....	42
7.3	CONTROL INTERNO DE PLANTA .....	43
7.3.1	Análisis ambiental .....	43
7.3.2	Control de manipuladores .....	44
7.3.3	Superficies de Empaques. ....	47
7.3.4	Análisis microbiológico de aguas. ....	50
7.4	Análisis de materia prima cárnica.....	51
8.	CONCLUSIONES .....	54
9.	RECOMENDACIONES.....	55
10.	BIBLIOGRAFÍA.....	56

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Análisis realizado a los diferentes productos elaborados en la Empresa. Fuente: (Autor).....	30
--	----

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.* Seguimiento microbiológico de un lote de jamón para bacterias ácido lácticas y aerobios mesófilos empleando temperatura crítica (7°C) y temperatura óptima (0-4 °C) durante 45 días (Fuente: Autor)..... 37
- Figura 2.* Seguimiento microbiológico de un lote de salchicha para bacterias ácido lácticas y aerobios mesófilos empleando temperatura crítica (7°C) y temperatura óptima (0-4 °C) durante 45 días (Fuente: Autor)..... 37
- Figura 3.* Análisis microbiológico de aerobios mesófilos para cada producto analizado durante cuatro meses (Fuente: Autor)..... 39
- Figura 4.* Análisis microbiológico de bacterias ácido lácticas en los diferentes productos analizados durante los cuatro meses (Fuente: Autor)..... 40
- Figura 5.* Análisis de *Escherichia coli* en derivados cárnicos elaborados durante cuatro meses (Fuente: Autor)..... 41
- Figura 6.* Análisis microbiológico de Coliformes Totales en derivados cárnicos elaborados durante cuatro meses (Fuente: Autor). ..... 42
- Figura 7.* Porcentaje de cumplimiento para Aerobios mesófilos, mohos y levaduras en las diferentes áreas que comprende la industria..... 43
- Figura 8.* Comportamiento del adecuado lavado de manos en los manipuladores del área de producción mediante el análisis de Coliformes Totales y *E. coli*. (Fuente: Autor)..... 45
- Figura 9.* Comportamiento del correcto lavado de manos en los manipuladores del área de deshuese mediante el análisis de Coliformes Totales y *Escherichia coli* (Fuente: Autor)..... 46
- Figura 10.* Análisis microbiológico de Coliformes Totales y *E. coli* en manipuladores del área de empaques durante la semana 24 del mes de junio hasta el mes de noviembre (Fuente: Autor)..... 47
- Figura 11.* Comportamiento del análisis de Aerobios mesófilos, Coliformes Totales y *Escherichia coli* para superficies de equipos y utensilios del área de empaques durante los meses comprendidos entre junio-Noviembre (Fuente: Autor). ..... 48
- Figura 12.* Porcentaje de cumplimiento de los meses de julio y octubre para análisis de Coliformes Totales y *Escherichia coli*..... 50

*Figura 13. Análisis microbiológico (Escherichia coli) para materia prima cárnica analizada durante los meses de julio, agosto, septiembre y octubre. .... 52*

## LISTA DE IMÁGENES

- Imagen 1.* Corrida generada por el *software* de detección molecular 3M™. Ausencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. en los diferentes productos cárnicos analizados (*Fuente: software* de detección molecular 3M™). ..... 43
- Imagen 2.* Corrida generada por el *software* de detección molecular 3M™. Presencia de *Listeria monocytogenes* en uno de los puntos de muestreo (*Fuente: software* de detección molecular 3M™). ..... 49
- Imagen 3.* Corrida generada por el *software* de detección molecular 3M™. Presencia de *Listeria monocytogenes* en punto de muestro sifón (*software* de detección molecular 3M™). ..... 49
- Imagen 4.* Grafica individual de la muestra reportadas por el *Software* de Detección Molecular 3M™ como positiva para *Salmonella* spp (*Fuente: software* de detección molecular 3M™). ..... 51
- Imagen 5.* Corrida generada por el *software* de detección molecular 3M™. Presencia de *Salmonella* spp. en dos de las muestras analizadas; color azul pasta de pollo, color rosado corte de res y finalmente curva de color amarillo para control positivo (*Fuente: software* de detección molecular 3M™). ..... 52

## 1. INTRODUCCIÓN

La implementación de sistemas de calidad en la industria de alimentos está dada desde la obtención de materias primas, hasta la distribución del producto terminado a los diversos establecimientos que lo expendien, lo que permite generar alimentos que cumplan con características que garantizan la inocuidad y seguridad por parte del consumidor.

En este contexto, la industria cárnica Casa Blanca surgió como un pequeño negocio en 1982, donde año tras año se ha modernizado y actualmente cuenta con tres marcas; *Carnelly*, cárnica Casa Blanca y Super *Carnelly*. Además, está presentando la línea de productos madurados y salchichas tipo europeas; donde el procesamiento de estos es elaborado con tecnologías que permiten garantizar a los clientes productos confiables y con las mejores características.

De este modo, los análisis que se llevaron a cabo en la industria cárnica Casa Blanca buscaron ofrecer al mercado productos que garantizaron la calidad e inocuidad; lo que represento especial interés a nivel comercial y de la salud.

La industria cárnica Casablanca dentro de los análisis realizados a materias primas cárnicas incluyen coliformes totales, coliformes fecales y detección de *Salmonella* spp; mientras que a productos cárnica terminados se contemplaba la detección de *Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, bacterias ácido lácticas, aerobios mesófilos, esporas de *Clostridium* sulfito reductor, coliformes totales y fecales, por otro lado, los análisis de aerobios mesófilos, mohos y levaduras eran necesarios en la evaluación de ambientes. En el control de manipuladores se detectaba la presencia de *E. coli* y coliformes totales. Finalmente, los análisis de *Listeria monocytogenes*, aerobios mesófilos, coliformes totales y coliformes fecales eran evaluados a las superficies de cada área de producción.

La estabilidad de los productos se llevaba a partir de temperatura óptima y crítica; donde 0°C se determinaba como la temperatura óptima de almacenamiento de cada producto y 7°C como temperatura crítica. Todo ello regulado bajo los requerimientos de normativas internas, nacionales e internacionales que permitieron garantizar la calidad de cada producto elaborado dentro de la empresa.

Además, el laboratorio cuenta con un sistema de detección molecular 3M™ para la detección rápida de patógenos, brindando una mayor seguridad y confiabilidad de los resultados obtenidos, lo que ha permitido verificar con mayor eficiencia la calidad de cada producto elaborado.

De esta manera se prevé seguir controlando los diversos factores microbiológicos dentro de la producción de cárnica y sus derivados; debido a que en la actualidad

la problemática generada por la ingesta de productos alimenticios con poca o ninguna calidad genera una alarma a nivel de salud pública ocasionando Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) y por tanto generando incertidumbre en el consumidor además de afectar la economía de la empresa. Para ello, los cumplimientos de los sistemas de calidad bajo las normativas pertinentes permiten garantizar que los productos no generen ningún riesgo para la población consumidora. De esta manera este trabajo pretendió evaluar la calidad microbiológica de los productos cárnicos, procesos de limpieza e higiene en operarios en la industria cárnicos Casa Blanca.

## 2. JUSTIFICACIÓN

La organización mundial de la salud (OMS) manifiesta que las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en países con poco desarrollo, son los que presentan mayor prevalencia de estas enfermedades, incluso son la causa de muertes. Se estima que el 70% de las causas de la diarrea es generado por el consumo de alimentos contaminados con microorganismos o con toxinas. La OMS para el año 2015 manifestó que, de cada 10 personas, una presenta por lo menos al año una ETA y la mortalidad por estas enfermedades oscilan entre 420.000 personas. Por otro lado, en Colombia la secretaría de salud reportó para el año 2016 mediante el Boletín Epidemiológico 8.648 casos de ETA's, presentándose tres muertes. Este problema de interés público pone en alerta a las entidades encargadas de la vigilancia y el control de estas enfermedades, lo que permite que dentro de los controles desarrollado por la industria cárnica Casa Blanca sea garantizar que el consumidor reciba productos de alta calidad, con el cumplimiento de parámetros microbiológicos dictados por la normativa.

El cumplimiento de estándares; ejecución de Buenas prácticas de manufactura, control interno de materias primas, adecuada infraestructura, manejo de planes de limpieza y desinfección, control de plagas, el análisis microbiológico, capacitación y control en los operarios de las diferentes áreas entre otros, permite garantizar la calidad de los productos que van a ser expuestos a los consumidores generando seguridad y confiabilidad en estos, además evita que se generen ciertos tipos de riesgos de carácter público; dado esto es de gran importancia que las industrias cuenten con un laboratorio que presente las condiciones y dotaciones necesarias para llevar a cabo los diversos análisis tanto microbiológicos como fisicoquímicos, este es el caso del laboratorio de análisis con el que cuenta la industria Cárnica Casa Blanca que tiene como función principal el control microbiológico de todo producto que se elabora, mediante el análisis de microorganismos que la normatividad exige, por ende se analiza coliformes totales, coliformes fecales, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, Bacterias Ácido Lácticas (BAL), *Staphylococcus aureus*, esporas de *Clostridium* sulfito reductor y aerobios mesófilos. Permitiendo ofrecer productos garantizados y rechazando aquel que incumple con lo establecido por la autoridad competente.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la calidad microbiológica de los productos cárnicos, procesos de limpieza e higiene en operarios en la Industria cárnicos Casa Blanca, Medellín- Antioquia.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el cumplimiento de los requisitos microbiológicos para la ausencia de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, y el recuento de Bacterias Ácido-Lácticas (BAL), *Staphylococcus aureus*, esporas de *Clostridium* sulfito reductor, coliformes totales, coliformes fecales, y aerobios mesófilos establecido por Norma Técnica Colombiana 1325 en los productos elaborados en la industria.
- Verificar la ausencia o presencia de *Listeria monocytogenes* en equipos, utensilios, superficies.
- Controlar la adecuada limpieza y desinfección de las manos en operarios mediante el análisis de *E. coli* y coliformes totales.
- Analizar la calidad microbiológica de la materia prima cárnica mediante la detección de *Salmonella* spp. y la técnica de número más probable para *Escherichia coli*.

## 4. MARCO TEÓRICO

### 4.1 MARCO REFERENCIAL

La industria cárnicos Casa Blanca es una organización que se encarga de fabricar y comercializar derivados cárnicos que satisfacen las necesidades del mercado, con la implantación de tecnología y personal capacitado. Inició en julio de 1982 como una carnicería de barrio, donde se elaboraba chorizos. A inicios de 1986 se da una nueva estrategia para abarcar y establecer la creación de nuevos productos, tal fue el caso que en el año 2008 se lideró el proyecto de madurados y salchichería europea.

Actualmente esta industria presenta un grupo de colaboradores que se desempeñan en diferentes áreas siendo más de 800 personas; conformado en equipos de investigación, desarrollo y producción, generando una producción anual de más de doce mil toneladas. Por otro lado, son pioneros en ser la industria colombiana de mayor producción de madurados.

Además, presenta tres marcas; Carnes Casa Blanca, donde se maneja todo lo referente a salchichas, jamones y madurados, *Carnelly*, desarrollada para productos novedosos, orientados a satisfacer al mercado que busca sabores intensos y originales, y Súper *Carnelly* que es la marca tradicional y masiva con la mejor ecuación costo beneficio, con productos de alta rotación y consumo rutinario.

La calidad e inocuidad de cada producto elaborado están evaluados y certificados mediante el cumplimiento de las Buenas prácticas de manufactura y el análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP). Lo referente a análisis microbiológicos llevados a cabo en el laboratorio de esta industria está regido por lo establecido por el decreto 1500, la Norma Técnica Colombiana 1325 y normas internacionales como: Reglamento técnico centro americano 67.04.50:08.

### 4.2 MARCO CONCEPTUAL

#### 4.2.1 Producción mundial y nacional

La Organización mundial de sanidad se encarga de llevar un seguimiento del cuidado animal en el mundo, reporta que la población mundial de bovinos y porcinos para el año 2016 fue 23475022 y 3458869 respectivamente (OIE, 2017), así mismo en Colombia el departamento administrativo nacional de estadística (DANE) reporta el sacrificio de porcinos para el año 2015 en un total de 802.658, para el 2016 de 915.553 y en el sacrificio de bovinos un total de 955.169 para el año 2015 y un total

de 938.841 para el 2016 (DANE, 2017). Dado estos datos se evidencia un crecimiento en el consumo de carne de un año a otro, resultando en un crecimiento demográfico en cada región de Colombia, generando una mayor atención para adoptar el control que permita evitar riesgos de enfermedades transmitidas por alimentos, mediante la implementación de inspecciones *ante-mortem* y *post-mortem* siendo una de las medidas iniciales para la inocuidad de la carne y además se asegura que tan adecuada es esta para ser sometida posteriormente en la elaboración de derivados cárnicos (FAO, 2014).

#### **4.2.2 Calidad de la carne**

Para garantizar la inocuidad de los productos cárnicos se requiere implementar controles en toda la cadena alimentaria es por ello que en primera instancia se debe efectuar medidas de seguridad a nivel de materias primas. Por tanto, el Codex Alimentarius desarrollo el *Código Internacional Recomendado de Prácticas de Higiene para la Carne Fresca* (CAC/RCP 11-1976 Rev. 1-1993), donde está plasmado los requisitos mínimos para obtener materia prima cárnica con características que garanticen la seguridad e inocuidad (CODEX ALIMENTARIUS,2005). Esto ayuda a que la carne que sea utilizada para la elaboración de productos cárnicos no genere riesgo de contaminación al consumidor, siempre y cuando este haya sido preparado y manipulado de forma adecuada, además se garantiza que no presente ningún tipo de enfermedad o contenga algún residuo inapropiado como lo es los plaguicidas, medicamentos que hayan sido suministrados para controlar algún tipo de enfermedad o la presencia de metales pesados (FAO, 2014).

La carne es un alimento de gran importancia debido a su alto valor nutricional y características fisicoquímicas y sus interacciones que tiene con el ambiente por tanto, la calidad de la carne y productos cárnicos ha llamado la atención en los últimos años debido a que estos pueden alterarse por peligros ya sean físicos, químicos y biológicos, siendo los últimos muy importantes debido a que pueden causar desde daños gastrointestinales hasta una enfermedad crónica dependiendo del microorganismo que lo cause, que por lo general en su mayoría son microorganismos patógenos. Es por ello que se debe aumentar la seguridad con el fin de controlar los peligros que se puedan originar durante el procesamiento de productos cárnicos con el fin de garantizar su inocuidad y de reducir pérdidas en el procesamiento industrial de la carne y sus derivados (Mortajemi y Lelieveld, 2013).

#### **4.2.2.1 Tipos de peligros**

Los peligros físicos pueden llegar a alterar la calidad de la carne y están relacionados con los objetos extraños que estén en el ambiente, mientras que los peligros químicos están relacionados con residuos de medicamentos, antibióticos, hormonas, promotores de crecimiento, pesticidas y/o aditivos en caso de los cárnicos procesados. Por último, los peligros biológicos residen en la presencia de virus, priones, bacterias y parásitos. Estos microorganismos pueden contaminar la carne y los productos cárnicos a partir de diversas fuentes entre las que incluyen: suelos, agua, heces fecales, animales, manipuladores, utensilios, aire e incluso animales enfermos. (Mortajemi y Lelieveld, 2013).

#### **4.2.2.2 Bacterias**

Son los principales tipos de peligros biológicos que pueden afectar la calidad de la carne causando ya sea infecciones o intoxicaciones transmitidas por los alimentos, debido a una carga considerable de estos microorganismos o sus toxinas, respectivamente (USDA, 1997). Las bacterias son organismos unicelulares, que miden entre 0,5 y 10 µm de largo o de diámetro, se encuentran en todos los ambientes y son transportados por agua, aire, insectos, plantas, animales y personas, pueden ser responsables por el deterioro de alimentos y de diferentes tipos de materiales (OPS, 2016). Entre las bacterias patógenas más notificadas en los últimos incluyen *Bacillus cereus*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*, serotipos de *E. coli* especialmente *E. coli* verotoxigénica productora de toxina shiga (STEC/VTEC) y enterohemorrágica (EHEC), *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* y *Yersinia enterocolitica* (Mortajemi y Lelieveld, 2013).

##### **4.2.2.2.1 Salmonella spp.**

Esta bacteria hace parte de la familia Enterobacteriaceae, son bacilos Gram negativos, este género está dividido en dos especies (*S. enterica* y *S. bongori*), en función de su perfil fenotípico. *S. enterica* es la especie implicada en ETAS, se puede dividir en seis subespecies utilizando su perfil fenotípico, se relaciona como uno de los patógenos de mayor relevancia dado su relación con las enfermedades transmitidas por alimentos generando la enfermedad diarreica aguda que puede ocasionar la muerte principalmente en niños, ancianos y en personas inmunocomprometidas. Dentro de los alimentos con mayor prevalencia con esta bacteria está las carnes, huevos crudos y lácteos (Durango, Arrieta y Mattar, 2004).

##### **4.2.2.2.2 Listeria monocytogenes**

Pertenece al grupo de microorganismos que generan enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) y que representa un problema de salud pública dado que

genera el síndrome conocido como listeriosis, este presenta una elevada mortalidad (Torres *et al*, 2004). Es un bacilo Gram positiva no presenta esporas, termoresistente, resiste en congelación, secado, calor y niveles relativamente altos de ácido, salinidad, alcohol, es ubicua y es aislada principalmente de productos crudos y cocidos como carne cruda, curada, quesos, leche cruda y pasteurizada. La prevalencia está mayoritariamente asociada a productos listos para el consumo generalmente los que no son sometidos a tratamientos térmicos para ser consumidos (Molina, Mercado y Carrascal, 2009).

#### **4.2.2.2.3 *Staphylococcus aureus***

Formado por cocos Gram positivos, anaerobio facultativo, no presenta capsula, inmóvil, catalasa positivo, desarrolla una cápsula mucoide que le permite adherirse a las células de los tejidos, es capaz de producir una enterotoxina con termorresistencia, esta capacidad está dada en las cepas de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, por tanto esta bacteria es el agente causal de infecciones causadas por el consumo de alimentos contaminados con estas toxinas; alimentos como productos cárnicos, leche, agua potable y carne de pollo son muy susceptibles dado que están en contacto directo o indirecto con el animal o en el caso de elaboración el contacto por parte del operador (Zendejas, Avalos y Soto, 2014).

#### **4.2.2.2.4 *Escherichia coli***

Bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo de metabolismo fermentativo, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, su hábitat natural está dado en el tracto gastrointestinal de animales de sangre caliente. La presencia de este microorganismo en alimentos está relacionado con contaminación de origen fecal, de esta forma está implicado en desencadenar procesos entéricos y ser causal de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS), además genera a nivel mundial una alarma de salud pública dado los casos diarreicos que ocasiona generalmente en niños generando una alta mortalidad, esto es causado por cepas que producen enterotoxinas y factores de virulencia de colonización e invasión (Kasnowski, *et al*, 2008).

#### **4.2.2.2.5 *Clostridium perfringens***

Bacilo Gram positivo formador de esporas e inmóvil con temperatura óptima de crecimiento entre 12 a 50°C. La intoxicación por esta bacteria llega a producir náuseas, dolor abdominal, diarrea y vomito; llega en forma vegetativa al estómago donde sobrevive a los jugos gástricos y luego pasa al intestino donde esporula y produce una enterotoxina de naturaleza proteica. Las esporas de este microorganismo son capaces de soportar condiciones de desecación y

calentamiento, procesos que son llevados a cabo en la elaboración de productos cárnicos (Alvarado, *et al*, 2013).

#### **4.2.3 Sistema de Detección Molecular 3M™**

El Sistema de Detección Molecular 3M™ está basado en la combinación de ADN amplificado y la detección por bioluminiscencia, lo que permite proporcionar una solución rápida, precisa y fácil de usar. Este sistema permite la detección de hasta 1 UFC de patógenos como *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes*, se utiliza para una detección específica y rápida en muestras de alimentos enriquecidos y en muestras ambientales de procesos de alimentos (Centro 3M, 2012).

### **4.3 MARCO LEGAL**

El marco legal que rige el sector cárnico y que se implementa como referencia normativa en la industria de cárnicos en la empresa Casa Blanca S.A está dada de la siguiente forma:

- Decreto 1500 del 2007 que presenta este presenta todo lo referente al sistema de vigilancia, control y la inspección de la carne, productos cárnicos que sean obtenidos para el consumo humano, a su vez establece cada requisito de sanidad para garantizar la inocuidad iniciando desde los procesos de crianza, beneficio, desposte, corte de canales, transporte, almacenamiento, las condiciones de comercialización, de expendio e incluso los parámetros de exportación e importación de la misma (MPS, 2007).
- Norma Técnica Colombiana 5554 del 2007, establece el procedimiento con la utilización de equipos como el molino o el cutter que se debe seguir en la preparación de muestras, carnes frescas o productos cárnicos (ICONTEC, 2007).
- Norma Técnica Colombiana NTC 1325 del 2008, donde se contempla cada requisito lo cual debe ser de cumplimiento por las industrias que elaboran productos cárnicos procesados a excepción de los enlatados (ICONTEC, 2008).
- Norma Técnica Colombiana 4132 de 1997, dicta de forma general el modo de recuento de colonias para mohos y levaduras mediante la utilización de parámetros de temperatura de 25°C (ICONTEC, 2007).
- Norma Técnica Colombiana 5034 del 2002 que menciona la forma de llevar a cabo el método para el análisis de bacterias ácido-lácticas mesófilas a partir de la incubación a 30°C (ICONTEC, 2002).

- Norma Técnica Colombiana 4834 del año 2000 establece la forma de determinar la presencia de bacterias de *Clostridium* sulfito reductoras e identificación de *Clostridium perfringens* en matrices de alimentos para el consumo humano o animal (ICONTEC, 2000).
- Norma Técnica Colombiana 5698-2 del año 2009 permite ser tomada como referencia para llevar a cabo el método de recuento de mohos y levaduras en productos alimenticios destinados para el consumo humano o animal, pero con la particularidad que estos presentan dentro de su naturaleza una actividad acuosa menor a 0,95 (ICONTEC, 2009).
- Reglamento técnico centro americano 67.04.50:08 del 2009, donde presenta los criterios microbiológicos referentes a la inocuidad en alimentos de cualquier clase, donde la categoría referente a productos cárnicos es la número 8 (RTCA, 2009).
- Resolución 0719 del 2015 establece una clasificación donde categoriza los tipos de alimentos con respecto al riesgo que puede generar al consumidor, donde los derivados cárnicos están catalogados como alimentos de mayor riesgo en salud pública (MINSALUD, 2015).
- Resolución 4241 de 1991 donde está contemplado los requisitos que debe cumplir las especias o condimentos vegetales en cuanto características organolépticas, genuinidad y microbiológicas (MINSAP, 1991).
- Resolución 2115 del 2007 donde se dictan cada una de las condiciones y cada control que debe ser de obligatorio cumplimiento para el agua que está destinada para el consumo humano (MPS, 2007).
- Resolución 2690 del 2015 donde establece la forma por la cual se elabora un programa de verificación microbiológica para llevar a cabo la inspección, la vigilancia y el control de la carne y productos cárnicos que sean comestibles (MINSALUD, 2015).

#### **4.4 REPORTES INTERNACIONALES Y NACIONALES.**

El Centro para el Control y la prevención de enfermedades (CDC), informó que por año alrededor de 48 millones de habitantes presentan algún tipo de enfermedad transmitida por alimentos, donde un número de personas, 128000 son hospitalizadas y de estas 3000 mueren (CDC, 2017). Dentro de los principales microorganismos causantes de estas enfermedades se han reportado los siguientes brotes:

En diciembre de 2015 la CDC, reportó un brote causado por cepas de *Salmonella* I y *Salmonella infantis* en 192 personas pertenecientes a cuatro estados; hubo 30 hospitalizaciones de las cuales no se reportaron muertes. La carne y productos de carne de cerdo generaron estas infecciones (CDC, 2015). A la vez, para ese mismo año se reportaron en siete estados un total de 15 personas enfermas de 4 a 82 años infectadas *Salmonella enteritides* por el consumo de un plato de pollo congelado, crudo, relleno y apanado producido por *Barber Foods* de los cuales, 4 individuos fueron hospitalizadas, no se informaron muertes (CDC, 2015).

Para el año 2012, la CDC reportó un total de 20 personas infectadas por *Salmonella typhimurium* en siete estados. Estas personas presentaban edades comprendidas entre 1 y 79 años, donde un número de 17 personas fueron hospitalizadas, pero no se presentó ninguna muerte. Las investigaciones realizadas para determinar las causas de este brote relacionaron este problema con el consumo de carne molida o carne picada en las tiendas Hannaford (CDC, 2012).

Se generó una alerta sanitaria la cual fue reportada por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) en agosto del 2017 donde por primera vez en Colombia aislaron a partir de carne cruda y chorizos, el gen *mcr-1* en *Salmonella enterica* serovariedad *typhimurium* y *Salmonella enterica* serovariedad *give*. Se generó una gran preocupación dado que este gen proporciona resistencia a la colistina; antibiótico utilizado para el tratamiento de infecciones generadas por bacterias Gram negativas (INVIMA, 2017).

El Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos – INVIMA- (2016) informó para el mes de octubre la presencia de *Listeria monocytogenes* en derivados cárnicos listos para el consumo, de igual forma en el mes de noviembre de ese mismo año detectaron la presencia de esta bacteria en jamón ahumado, jamón de cerdo y jamón de pollo.

## 5. METODOLOGÍA.

En este apartado se menciona las diferentes actividades que se llevaron a cabo en la industria cárnica Casa Blanca durante el proceso de práctica.

### 5.1 PREPARACIÓN DEL MATERIAL DE LABORATORIO

Todo el material de laboratorio se preparaba y se esterilizaba semanalmente.

#### 5.1.1 Medios de cultivo

Los medios de cultivo utilizados para lograr evidenciar el desarrollo o la presencia de los diferentes microorganismos de interés están elaborados con los nutrientes adecuados que suplen los requerimientos metabólicos de cada bacteria, de igual forma no permite el desarrollo microorganismos indeseables.

##### 5.1.1.1 Caldo Demi Fraser 3M™

Su composición está dada en % en peso; cloruro de sodio 30- 40 %, fosfato de sodio dibásico 10-20 %, extractos de carne 5 -15 %, extracto de levadura 5 – 15%, caseína enzimática hidrolizada 5 – 15%, tejido animal enzimático hidrolizado 5 – 15%, cloruro de litio 0 - 10 %, esculina 0 – 5 %, fosfato ácido de potasio 0 – 5 %. se preparara 30 frascos de vidrio (250 ml) marca *Boeco Germany* con 225 ml de caldo, además 3 frascos de vidrio con 250 ml siguiendo las especificaciones del fabricante 55 g en 1 L de agua destilada; esta se obtuvo a nivel de laboratorio a partir de la utilización de un destilador de agua marca *Tuttnauer*, al momento de pesar el medio se utilizó una balanza electrónica *MIX-H LEXUS*, seguidamente se adiciono el medio en agua y se homogenizó, se sirvió en cada frasco el volumen mencionado y se autoclavó (121° C durante 15 minutos) usando una Autoclave electrónica marca *All American* y autoclave de mesa con apagado automático marca *Tuttnauer*.

Para verificar la correcta esterilización o las condiciones internas de la autoclave (tiempo, temperatura y vapor) se utilizaron tiras indicadoras 3M™ *Comply* la cual se deposita al interior de la autoclave.

##### 5.1.1.2 Caldo Fraser Base 3M™

Su composición está dada en % en peso; cloruro de sodio 30- 40 %, fosfato disódico 10-20 %, extractos de carne 5 -10 %, esculina 0 – 10, cloruro de litio 0 - 10 %,

difosfato de potasio 0 - 10 %, extracto de levadura 5 -10 %, tejido animal enzimáticamente hidrolizado 5 – 10 %, caseína enzimáticamente hidrolizada 5 – 10 %. Se preparó semanalmente 26 frascos de vidrio con 10 ml del caldo a partir de las especificaciones dadas por el fabricante; 55 g en 1 L de agua destilada, el proceso de preparación es igual al mencionado en el numeral 5.1.1.1.

#### **5.1.1.3 Agua Peptonada Tamponada Scharlau**

Su composición está dada en g/L, 10 g de peptona de caseína, 5.0 de cloruro de sodio, 3.5 de fosfato disódico y 1.5 de fosfato de potasio.

Siguiendo las especificaciones se prepararon 55 frascos de vidrio marca *Boeco Germany* con 90 ml de agua peptonada tamponada, además 120 frascos con 9 ml de esta y 40 tubos de plástico con 9 ml de agua peptonada diluida; estos caldos son preparados como se ha mencionado al principio.

#### **5.1.1.4 Peptona concentrada 3M™**

La composición para este caldo en g/L está dada por 10 g de caseína, 5.0 g de cloruro de sodio, 1.5 g de di-hidrogeno fosfato de potasio y 9.0 de fosfato de hidrógeno disódico dodecahidratado. Se prepararon 35 frascos de vidrio (250 ml) marca *Boeco Germany* con 225 ml de caldo, siguiendo las especificaciones del fabricante 25.5 g en 1 L de agua destilada obtenida a nivel de laboratorio, los procedimientos posteriores se realizaron de la misma manera como se preparó en caldo Fraser 3M™.

#### **5.1.1.5 Medio de cultivo liquido LMX-Fluorocult**

La composición para este caldo; 5.0 g de triptosa, 5.0 g de cloruro sódico, 1.0 g de sorbitol, 1.0 g de triptófano, 2.7 hidrogenofosfato dipotásico, 2.0 de hidrogenofosfato potásico, 0,1 de lauril sulfato de sodio, 0.08 de 5-bromo-4- cloro-3-indolil-  $\beta$ -D-galactopiranosido ( X GAL) , 0.05 metilumberifenil  $\beta$ -D-glucopiranosido ( MUG) y 0.1 de 1- isopropil - $\beta$ -D-1-Tio- galactopiranosido (IPTG).

Se prepararon 130 tubos de vidrio con 9 ml de caldo teniendo en cuenta lo establecido por el fabricante 17 g/L; el procedimiento que se llevó a cabo corresponde a lo escrito anteriormente, pero en su lugar se adicionó agua desionizada, obtenida del proveedor.

#### **5.1.1.6 Medio de cultivo Plate Count Agar (PCA) Scharlau**

Este agar presenta como componentes en g/L; 5.0 g de peptona de caseína, 2.5 de extracto de levadura, 1.0 g de dextrosa y 15 g de Agar. Se preparó 2750 ml en

frascos de vidrio (500 ml y 250 ml) marca *Boeco Germany*, siguiendo las especificaciones del proveedor 23.5 g en 1L de agua destilada, la cantidad de medio a utilizar se pesó en una balanza electrónica *MIX-H LEXUS*, seguidamente se homogenizó en agua destilada requerida y se sometió a ebullición para luego ser autoclavado (121°C durante 15 minutos).

#### **5.1.1.7 Medio de cultivo Chromocult**

La composición está dada por 3.0 g de peptona, 5.0 de cloruro sódico, dihidrogenofosfato sódico ,1.0 g de triptófano, 1.0 piruvato sódico, 7.0 tergitol,1 sorbita, 10 de agar-agar, Se esterilizaron 250 ml o 500 ml de agua desionizada a 121°C durante 15 minutos, luego se pesaron 26.5 g/L del medio y se sometió a calentamiento hasta total disolución en la plancha de calentamiento marca *SCIOLOGEX*. Seguidamente se enfrió y se vertió en cajas de Petri plásticas estériles de 94 x 16 mm.

#### **5.1.1.8 Medio de cultivo MRS *Scharlau***

Su composición está dada en g/L: 10 g de peptona proteasa, 8.0 g de extracto de carne, 4.0 extracto de levadura, 20 g de D- glucosa, 5,0 g de Acetato de Sodio, 2.0 g de acetato de triamonio, 0.2 g Sulfato de magnesio, 0.05 g de Sulfato de manganeso, 2.0 g de fosfato dipotásico,1.0 g de polisorbato 80 y 14 g de Agar. Se preparó 1250 ml en frascos de vidrio (250 ml) marca *Boeco Germany*, siguiendo las especificaciones del proveedor 66 g/L de agua destilada, la cantidad de medio a utilizar se pesó en la balanza electrónica *MIX-H LEXUS*, seguidamente se homogenizó en la cantidad apropiada de agua destilada sometiéndose a ebullición para luego ser autoclavado (121°C durante 15 minutos).

#### **5.1.1.9 Medio de cultivo Sulfito Polimixina Sulfadiazina (SPS) *Scharlau***

La composición para este Agar en g/l es: 0.5 g de sulfito de sodio, 0.01 g de sulfito polimixina, 0.12 g sulfadiazina de Sodio, 15 g de peptona de caseína, 10 g de extracto de levadura, 0.50 citrato férrico, 0,10 g de tioglicolato sódico, 0.50 polisorbato 80 y 15 g de Agar.

Se prepararon 1500 ml en frascos de vidrio (500 ml y 250 ml). El procedimiento que se llevó como se mencionó anteriormente.

#### **5.1.1.10 Medio de cultivo Saboraud Dextrosa agar *Scharlau***

Su composición está dada en g/L como sigue; 40 g de D- glucosa, 5.0 g de peptona de carne, 5.0 g de peptona de caseína, 15 g de Agar. Se prepararon 1750 ml en

frascos de vidrio (500 ml) marca *Boeco Germany*, siguiendo las especificaciones del proveedor 65 g en 1L de agua destilada, los siguientes pasos se realizaron como se describe anteriormente.

#### **5.1.1.11 Medio de cultivo Baird Parker *Scharlau***

Su composición está dada en g/L como sigue; 10 g de triptona, 10 g de piruvato de Sodio, 12 g de glicina, 5.0 g de extracto de carne, 5.0 g de cloruro de litio, 1.0 g de extracto de levadura y 15 g de Agar.

Se prepararon 2000 ml en frascos de vidrio a partir de las especificaciones dadas por el fabricante; suspendiendo 60 g en 950 ml de agua destilada, se llevó a ebullición, se esterilizó (121°C durante 15 minutos) y se dejó enfriar (45°C) para adicionar 50 ml/L de solución de yema de huevo más telurito marca *Scharlau*, se homogenizó y se vertió en cajas de Petri estériles.

## **5.2 VIDA ÚTIL DE PRODUCTOS.**

Los productos que se elaboran en la industria cárnica se analizaron cada semana bajo dos temperaturas 7°C (Temperatura crítica) y 0°C (Temperatura óptima) durante 45 días. El primer día de análisis, a cada producto (Temperatura optima) se evalúa la presencia o ausencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. mediante el método de detección rápida 3M™, recuento de aerobios mesófilos, bacterias ácido lácticas, *Staphylococcus aureus* y Esporas de *Clostridium* sulfito reductor.

### **5.2.1 Detección de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp.**

El procedimiento que se llevó a cabo para la determinación de estos patógenos en cada producto cárnico analizado fue de acuerdo con lo contemplado en la AOAC Official methods; AOAC Official methods 2013.09. *Salmonella* in selected Foods. 3M™ Molecular Detection Assay (MDA) *Salmonella* Method First action. AOAC Official methods of analysis (OMA) first Action. Método de detección de *L. monocytogenes* (AOAC, 2005).

Cada producto inicialmente se anexo a la lista de chequeo mediante la utilización del código VU (vida útil), luego se procedió al marcaje de las bolsas y cajas de Petri estéril con cada código, seguidamente se tomaba el producto y se desinfectaba el empaque; con cubiertos estériles se tomaban 25 g de muestra utilizando una balanza electrónica *MIX-H LEXUS*.

El procesamiento de la muestra se llevaba a cabo en la cabina de seguridad biológica marca BIOBASE; se adicionaron 225 ml de Caldo Demi Fraser para el análisis de *Listeria monocytogenes* y 225 ml de Peptona Concentrada 3M™ para *Salmonella* spp.; las muestras se homogeneizaron con ayuda de un *Stomacher MIX 2* durante 30 seg. Para el análisis de *Salmonella* spp. la muestra solo se incubaba por 24-48 horas a 35°C. Si se deseaba detectar *L. monocytogenes* a las 24 horas, se hizo necesario añadir 2 ml de suplemento dado por el proveedor, luego se incubaba 35 °C ±2°C. Si no se añadía el suplemento, luego del tiempo de incubación se procedía a tomar 100 µl de la muestra incubada y se añadía en 10 ml de caldo Fraser. La muestra se incubaba bajo las mismas condiciones.

Finalmente se procedía a montar las muestras al Sistema de Detección molecular 3M™. A partir de cada muestra se tomaban 20 µl, los cuales se añadían al tubo de lisis para la detección de *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp, se deja durante 15 minutos en el equipo de calentamiento a una temperatura entre 99-101 °C, luego un cambio de color en el tubo se observaba (viraje de color violeta a amarillo), pasado este tiempo se dejaba enfriar hasta que el tubo tomase el color inicial (color violeta).

Luego se tomaban 20 µl de cada tubo de lisis y se adicionaba al tubo de reacción, dejando actuar durante 4 segundos, se homogenizaba y se sellaba. Seguidamente, los tubos se colocaban en el equipo en las posiciones correspondientes al análisis que se deseaba llevar a cabo y la corrida se iniciaba. Pasado 75 minutos, los resultados se evidenciaban en el *Software* de detección molecular con + (Resultado positivo) o – (resultado negativo) para la presencia o ausencia del microorganismo. Además, se generaba una gráfica, la cual expresaba el comportamiento de los resultados obtenidos en 75 minutos donde los picos generados de las unidades relativas de luz (URL) eran considerados como positivos.

### **5.2.2 Recuento de Aerobios mesófilos, Bacterias ácido-lácticas y *Staphylococcus aureus*.**

El procedimiento para llevar acabo el recuento de aerobios mesófilos se realizó de acuerdo con la AOAC oficial Method 990.12, el método AOAC oficial Method 975.55 para el recuento de *S. aureus* (AOAC, 2005) y lo establecido en la norma técnica colombiana 5034 del año 2002 para el recuento de bacterias mesofílicas ácido lácticas (ICONTEC, 2002).

Cada producto inicialmente se anexo a la lista de chequeo mediante la utilización del código VU (vida útil), luego se procedía a marcar las bolsas y cajas de Petri estéril con cada código, seguidamente se pesaban 10 g del producto en una balanza electrónica *MIX-H LEXUS* con ayuda de cubiertos previamente desinfectados y flameados.

La muestra era diluida en 90 ml de Agua Peptonada, y homogenizada en un *stomacher MIX 2* durante 30 segundos, seguidamente diluciones (1/10) seriadas hasta  $10^{-3}$  eran realizadas con ayuda de una micropipeta. A partir de estas, se adicionaban 1 mL a las cajas de Petri que estaban destinadas para los análisis de aerobios mesófilos y bacterias ácido lácticas; mientras que para el recuento de *Staphylococcus aureus* era adicionado 0,1 mL en superficie. Luego, las cajas eran mantenidas en incubación durante 48 horas a  $35 \pm 2$  en los medios destinados respectivos para el análisis (PCA, MRS con doble capa y Baird Parker).

Finalmente, se realizó el recuento pertinente, donde se contaban colonias rosadas para aerobios mesófilos, diferentes tipos de colonia para Bacterias ácido-lácticas y colonias negras brillantes con halos alrededor en agar Baird Parker.

### **5.2.3 Esporas de *Clostridium* sulfito reductor.**

La metodología que se manejó para el recuento de *Clostridium* sulfito reductores dada de acuerdo con lo descrito en la NTC 4834 del 2000 (ICONTEC, 2000).

El procedimiento se realizaba como se describió en el numeral 5.2.2. A partir de la dilución  $10^{-1}$ , se tomaba 1 mL y se adicionan en un tubo de ensayo estéril, el cual se termizaba a  $80^{\circ}\text{C}/10$  minutos, pasado este periodo de tiempo se adiciona en hielo durante 5 minutos.

Posteriormente se generaba una doble capa con la adición de agar SPS para luego ser incubado durante 48 horas a  $35 \pm 2$  C °. Finalmente, se realizó el conteo de colonias negras características.

### **5.2.4 Coliformes Totales y Coliformes Fecales.**

La metodología que se ejecutó para determinar el recuento de este grupo de bacterias en cada análisis fue según la AOAC official method 966.24 coliform group and *Escherichia coli* (AOAC, 2005).

A partir de la primera dilución se tomó 1 ml y se depositó en una caja de Petri estéril, se adicionó 20 ml de agar Chromocult y se dejó solidificar. Se incubó durante 48 horas a  $35 \pm 2$  C °. Se realizó el recuento teniendo en cuenta las colonias representativas para coliformes Totales (color rojo asalmonado) y colonias para coliformes Fecales (color azul oscuro y violeta). Los resultados de los recuentos se expresaron de acuerdo con lo establecido por la NTC 4092 del año 2009 (ICONTEC, 2009).

### 5.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE PRODUCTO TERMINADO.

Cada producto elaborado se analizaba para poder ser distribuido y comercializado al mercado, se tenía en cuenta que el producto tuviese como máximo dos semanas de ser empacado. Partiendo de un plan de muestro semanal y del tipo de producto (tabla 1) se analizaban dos y/o tres unidades.

Bajo la normativa correspondiente se realizaban los siguientes análisis microbiológicos: Detección de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. mediante el método de detección rápida, recuento de aerobios mesófilos, bacterias ácido lácticas, *Staphylococcus aureus*, esporas de *Clostridium* Sulfito reductores y coliformes totales y fecales.

El procedimiento que se realizaba para la determinación de estos microorganismos corresponde a lo establecido por los métodos descritos de la AOAC y la NTC, 5034.

Tabla 1. Análisis realizado a los diferentes productos elaborados en la Empresa.  
Fuente: (Autor)

Producto	Análisis	Medio de cultivo utilizado
Chorizo campesino Chorizo criollo Chorizo de ternera Chorizo Superternera Chorizo tradicional Chorizo vela	Detección de <i>Listeria monocytogenes</i>	Caldo Demi Fraser
Hamburguesa precocida Jamón de cerdo Jamón de pavo Jamón premium Jamón reserva	Detección de <i>Salmonella</i> spp	Caldo peptona concentrada.
Jamón Sanduche Mortadela de pavo Mortadela de pollo Salchicha alemana Salchicha Bacon dog	Recuento de Aerobios mesófilos.	Plate Count Agar (PCA)
	Recuento de Bacterias ácido lácticas	MRS

Salchicha Cervelat Salchicha Debrecziner Salchicha Long Salchicha miniparrilla Salchicha parrillera Salchicha suiza Salchicha tradicional Salchicha Wieners Salchicha Legendaria Salchicha Long Salchicha tipo desayuno	Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	Baird Parker
	Recuento de Coliformes Totales y fecales	Agar Chromocult
	Esporas de <i>Clostridium</i> spp	Sulfito Polimixnina Sulfadiazina (SPS)

## 5.4 CONTROL INTERNO DE PLANTA

### 5.4.1 Análisis ambiental

Para llevar a cabo el control ambiental dentro de las áreas de bodega, producción y deshuese y en el área de empaques se tiene determinado internamente un recuento máximo de aerobios mesófilos (200 y 47 UFC/15 min), mohos (80 y 52 UFC/15 min) y levaduras (150 y 52 UFC) respectivamente.

La metodología que se empleaba fue basada en la técnica de sedimentación en placa y las condiciones de temperatura y tiempo de incubación fueron aplicadas de acuerdo con lo aprobado por la AOAC Official method 997.02 Yeast and Mold Counts in foods (AOAC, 2005).

Para llevar a cabo este análisis se colocaron cajas de Petri con agar PCA y saboraud en superficies planas en cada área: Bodega, Deshuese, Empaques y producción durante 15 minutos. Pasado este tiempo, las cajas se sometían a condiciones de incubación de 2 días a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  para recuento de aerobios mesófilos y 5 días a  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Finalmente se realizó el recuento respectivo, el cual se registró en un formato de control de ambientes.

## 5.4.2 Control de manipuladores

### 5.4.2.1 Manipuladores del área de producción y deshuese.

Para las áreas de producción y deshuese la constancia de análisis se realizaban cada 15 días.

Se preparó tubos con 10 ml de caldo LMX-Flourocult según especificaciones dadas, utilizando hisopos estériles. El frotis se tomó, en dedos, uñas, parte superior de las manos en cada operario (20 – 30) con las manos limpias y desinfectadas (con el objeto de verificar la efectividad del proceso de limpieza y desinfección, ya que en estas áreas se tratan materias primas crudas y los resultados de la evaluación de estos microorganismos siempre ha sido presencia. Por ende, se toman estas áreas como objeto de estudio para los procesos de sanitización del personal).

Luego de la incubación a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , se determina la presencia coliformes Totales mediante el cambio de coloración a verde azulada y la presencia de coliformes Fecales era confirmada con al someter los tubos presuntivos a luz UV y adición del reactivo de kovac's.

Para determinar el porcentaje de cumplimiento de buenas prácticas higiénicas se determinó con la siguiente formula, la cual permitió observar el adecuado lavado de manos de los operarios.

$$\text{Formula 1: } \% \text{ BHP} = \frac{\# M. \text{Analizados} - \# M. \text{Presencia C. Totales}}{\# M. \text{Analizados}} \times 100$$

### 5.4.2.2 Manipuladores del área de Empaques.

Este procedimiento se llevaba a cabo mediante un frotis realizado directamente a cada uno de los manipuladores en el momento de su labor, prontamente el hisopo se suspendía en agua peptona diluida, se hacía vortex y se inoculaba 1 ml en cajas de Petri; finalmente 20 ml de agar Chromocult eran adicionados para el análisis de coliformes fecales y totales. Este procedimiento se realizaba semanalmente.

Las cajas se incubaron a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , se determinó la presencia de colonias representativas. Para determinar el cumplimiento de cada manipulador de alimentos se presenta internamente un número máximo de coliformes totales de 150 UFC por manipulador.

### 5.4.3 Superficies del área de Empaque.

La periodicidad con la que se realizaba los muestreos de las superficies era semanalmente y los análisis para los que se destinaban se mencionan a continuación.

En un tubo plástico con 9 ml de agua peptona diluida, se suspendía un hisopo proveniente del muestreo de cada superficie: lateral de empacadoras, tiras de tajadoras, bandas de tajadoras, correa de separadoras, mesas auxiliares, balanzas, canastillas, cuchillos, cuchilla de las tajadoras, carro transportador, estanterías, mesa separadora, empaque al vacío y bolsas de canastillas.

El recuento de aerobios mesófilos y coliformes se llevaba a cabo utilizando agar PCA y Chromocult respectivamente, bajo incubación a 35°C ± 2 °C por 48 horas. El respectivo conteo de colonias se realizaba y se registraba en el formato análisis de superficie de empaques.

Para determinar el porcentaje de cumplimiento de buenas prácticas higiénicas para esta área se da de la siguiente forma.

$$\text{Fórmula 2. } \% \text{ BPH} = \frac{\# S.\text{Analizados} - \# S.\text{Presencia C.Totales}}{\# S.\text{Analizados}} \times 100$$

\*S: superficies; \*BPH: Buenas prácticas higiénicas.

El límite máximo de cumplimiento interno para para aerobios mesófilos es de 3500 UFC/100 cm<sup>2</sup> mientras que para coliformes totales y *E. coli* es de 250 UFC/100 cm<sup>2</sup> y <10 UFC/100 cm<sup>2</sup>

Por otro lado, se llevaba a cabo el análisis para la detección *Listeria monocytogenes* en superficies de contacto directo teniendo en cuenta las áreas establecida en el plan de muestreo; para ello se utilizaban escobillones estériles marca 3M™ expuestos sobre las superficies.

Posteriormente, se adicionaban 50 ml de caldo Demi Frasser y se incuban a 35°C ± 2 °C durante 24 horas, pasado el tiempo se tomaban 100 µL a 10 ml de caldo Frasser base incubándose bajo las mismas condiciones. Finalmente, el procedimiento la detección se realizaba bajo el protocolo descrito el numeral 5.2.1 hecho con equipo de detección molecular 3M™.

### 5.4.4 Análisis microbiológico de aguas.

Para la detección de presencia/ausencia de coliformes totales y *E. coli*, un análisis mensual se realizó la toma de 100 ml de agua de los diferentes puntos: Ducha

salchicha, agua tanque reserva, agua empaques, agua producción, agua destilada, agua deshuese, agua molinos y agua bodega.

Un sobre de Readycult coliformes 100 de Merk era adicionado a la muestra de agua, se agitaba y se incubaba durante 48 horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Pasado este tiempo se observaba una coloración azul-verdosa para determinar la presencia de coliformes totales, mientras que para *E. coli* se observaba fluorescencia bajo luz UV. Se reportaba y se determinaba el porcentaje de cumplimiento de los puntos de muestreo.

## **5.5 ANÁLISIS DE MATERIA PRIMA CÁRNICA**

Se analizaron diversos cortes de carne de res, carne de cerdo y pastas de pollo utilizando 25 gramos para la detección de *Salmonella* spp. mediante el método de detección rápida ya mencionado y 10 gramos para determinar coliformes totales y *E. coli* mediante la técnica de número más probable (NMP).

10 g de muestra se suspendían en 90 ml de agua peptonada (Dilución  $10^{-1}$ ), a partir de esta, se realizaban diluciones sucesivas hasta  $10^{-3}$ . De cada dilución se tomaba por triplicado 1 ml los cuales se adicionaban a tres tubos con 9 ml de caldo LMX-fluorocult marcados previamente ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ). Se incubó durante 48 horas a una temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

El recuento de NMP Bacterias/ml se determinó utilizando una tabla establecida para su recuento.

## 6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	MESES	AÑO 2017																					
		JUNIO			JULIO			AGOSTO			SEPTIEMBRE			OCTUBRE			NOVIEMBRE			DICIEMBRE			
		SEMANAS																					
		2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	
Inducción laboratorio de microbiología.																							
<b>Análisis microbiológico</b>																							
Producto terminado.																							
Vida útil																							
Manipuladores del área de producción.																							
Manipuladores del área de desposte.																							
Manipuladores del área de empaques																							
Materia prima cárnica																							
Análisis ambiental y agua																							
Lavado de material del laboratorio																							
Preparación de medios de cultivo.																							
Certificación en Higiene y Manipulación de Alimentos.																							
Llenado de los diferentes formatos en cada análisis.																							
Inicio de desarrollo de trabajo escrito																							
Revisión bibliografica																							
Envío del primer avance																							
Envío segundo avance																							
Entrega trabajo final																							
sustentación trabajo de grado																							

## 7. RESULTADOS Y ANÁLISIS

A continuación, se muestra los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos (*Salmonella* spp, *Listeria monocytogenes*, Aerobios mesófilos, Bacterias ácido-lácticas, esporas de *Clostridium* sulfito reductor, *Staphylococcus aureus*, Coliformes totales y *Escherichia coli*), realizados a los diversos productos elaborados en la industria cárnicos Casa Blanca. Las gráficas son expresadas en logaritmo (UFC/g de producto) del recuento obtenido, de igual forma se muestra la especificación normativa de estos. Así mismo, son evidenciados los comportamientos del desarrollo de Aerobios mesófilos y Bacterias ácido-lácticas en dos productos cárnicos terminados durante un periodo de 45 días utilizando temperatura óptima (0°C - 4°C) y temperatura crítica (7°C).

El análisis generado por el equipo de detección molecular de bacterias patógenas tanto para producto terminado, materia prima cárnica y superficies de equipos y utensilios se muestra según lo generado por el *software*. Por último, se evidencia los gráficos con el porcentaje de cumplimiento según los análisis de control interno (manipuladores, ambientes, superficies y análisis microbiológico de aguas) de la industria.

### 7.1 VIDA ÚTIL DE PRODUCTOS

Durante los cuatro meses se determinó la vida útil de un total de 20 productos de los cuales solo se presentan en este ítem dos resultados; un lote de salchicha que no cumplió la vida útil de 45 días al ser sometido a temperatura crítica (7°C), pero presentó cumplimiento en temperatura óptima y un lote de jamón que cumplió adecuadamente con los parámetros establecidos de bacterias ácido lácticas y aerobios mesófilos en las dos temperaturas establecidas (Fig. 1 y 2).

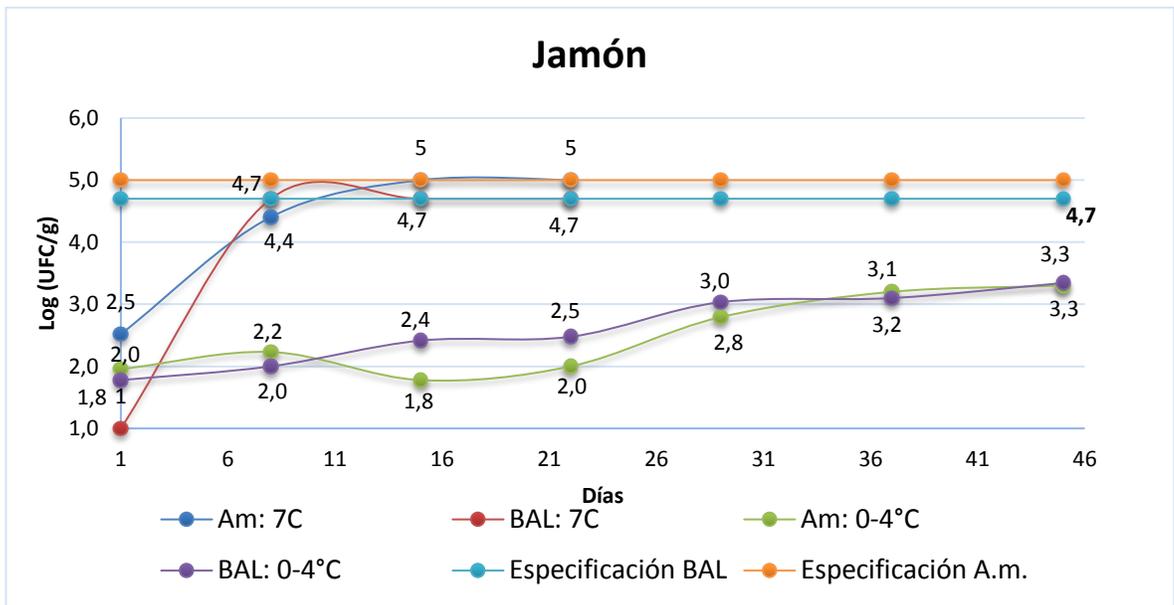


Figura 1. Seguimiento microbiológico de un lote de jamón para bacterias ácido-lácticas y aerobios mesófilos empleando temperatura crítica (7°C) y temperatura óptima (0-4 °C) durante 45 días (Fuente: Autor).

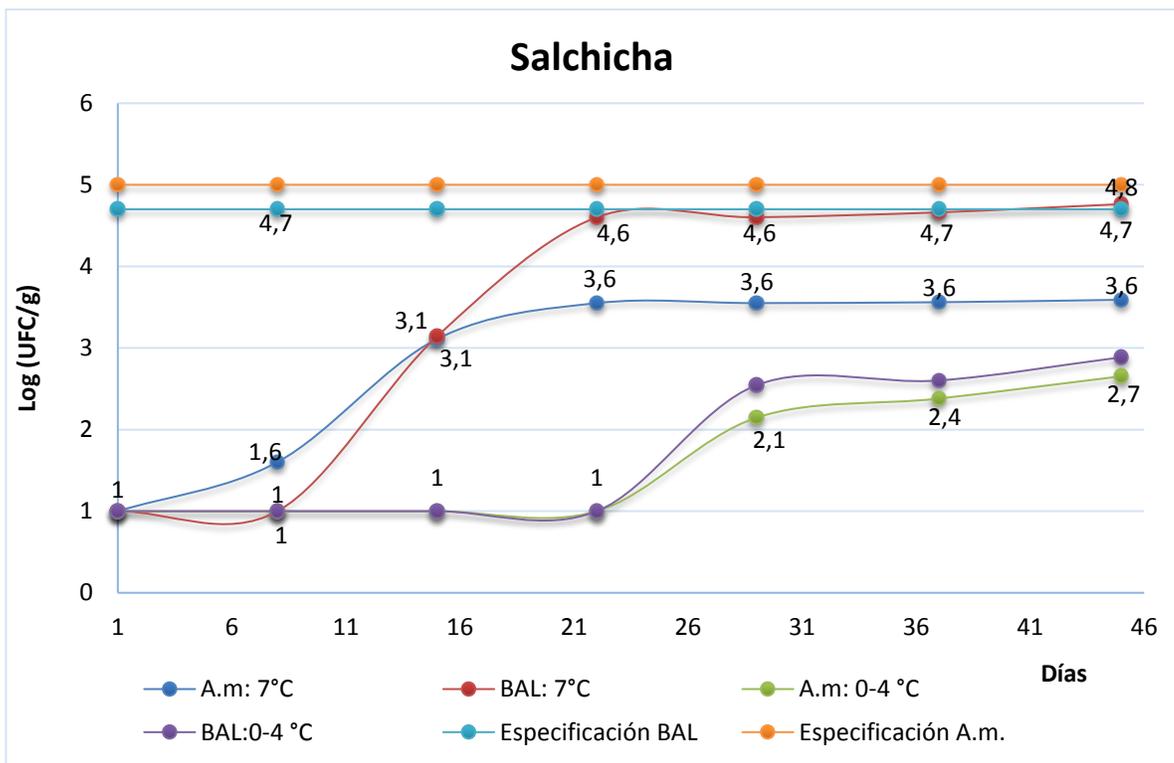


Figura 2. Seguimiento microbiológico de un lote de salchicha para bacterias ácido-lácticas y aerobios mesófilos empleando temperatura crítica (7°C) y temperatura óptima (0-4 °C) durante 45 días (Fuente: Autor).

En comparación con los productos analizados presentados en la *Figura 1* y *2* se evidencia la estabilidad de cada uno de ellos a diferentes temperaturas, es por ello que cabe decir que el procesamiento de estos desde el momento que sale del horno hasta el momento del empaqueo del producto es diferente; debido a que los jamones en su mayoría son sometidos a procesos de tajado siendo más propensos a la contaminación y/o alteración por microorganismos a causa del contacto con utensilios, equipos y manipuladores; en comparación con una salchicha que sufre el proceso de cocción y seguidamente pasa al empaqueo.

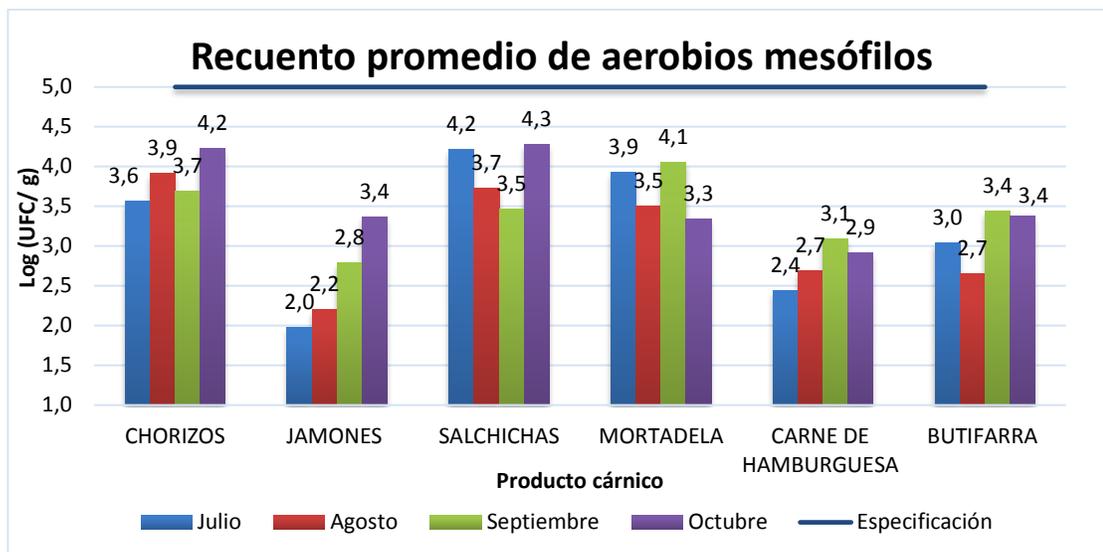
Es así como lo demuestra la USDA (2013, 2016) al describir la vida útil de estos productos a las dos temperaturas con las que se evalúan en este trabajo, mencionando que para una salchicha convencional su tiempo de vida es de 2 semanas a una temperatura crítica, mientras que para un jamón cocido su estabilidad se reduce de 3 a 5 días. En cambio, a una temperatura de congelación de 0-4°C los dos llegan a durar de 1 a 2 meses.

De acuerdo con esto, y a los límites establecidos según la NTC 1325 y la normativa de la empresa para el recuento de aerobios mesófilos y bacterias del ácido láctico respectivamente. Se demuestra que el producto cárnico cocido salchicha cumplió con los con su estabilidad alcanzando su vida útil, mientras que el Jamón no cumple con la vida útil si es sometido a una temperatura crítica.

## **7.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO PRODUCTO TERMINADO**

### **7.2.1 Recuento de microorganismos aerobios mesófilos.**

El promedio del total de productos cárnicos analizados para cada línea (chorizos, salchichas, jamón, mortadela, carne de hamburguesa y butifarra) por semana fue de 8, permitiendo de este modo obtener por mes un número promedio de 32 productos por línea, por tanto, se obtuvieron 32 recuentos que se expresaron en Log (UFC/g) de producto. A partir de estos datos, se generó un solo promedio mensual, así mismo se evidencia el índice máximo de calidad permitida por la norma técnica colombiana 1325 del 2008 expresada en 5 Log (100 000 UFC/g) correspondiente a lo expresado en la Fig. 3.



**Figura 3.** Análisis microbiológico de aerobios mesófilos para cada producto analizado durante cuatro meses (Fuente: Autor)

Se pudo evidenciar que todos los productos estudiados durante los cuatro meses presentaron recuentos inferiores al índice máximo permisible para aerobios mesófilos descrito por la norma para productos cárnicos procesados cocidos, a su vez se vio un aumento progresivo del desarrollo de estos microorganismos en jamones durante los cuatro meses, siendo el mes de octubre el que mostró mayor crecimiento en el producto.

### 7.2.2 Recuento de bacterias mesofílicas de ácido láctico, *Staphylococcus aureus* y esporas de *Clostridium* sulfito reductor.

No se cuenta con normativa que defina requisito microbiológico de bacterias ácido lácticas para determinar la calidad de los productos analizados, por tanto internamente se establece un límite máximo de 50 000 UFC/g (Log 4,7 UFC/g) de BAL, se logró evidenciar que las cuatro líneas de productos elaborados estuvieron dentro del límite máximo, para la primera semana del mes de agosto y mes de septiembre se observó que los chorizos presentaron el mayor recuento de microorganismos (3,7 UFC/g), sin embargo para el mes de octubre, se observó menor número de bacterias ácido lácticas en productos respecto a julio y agosto (Fig. 4).

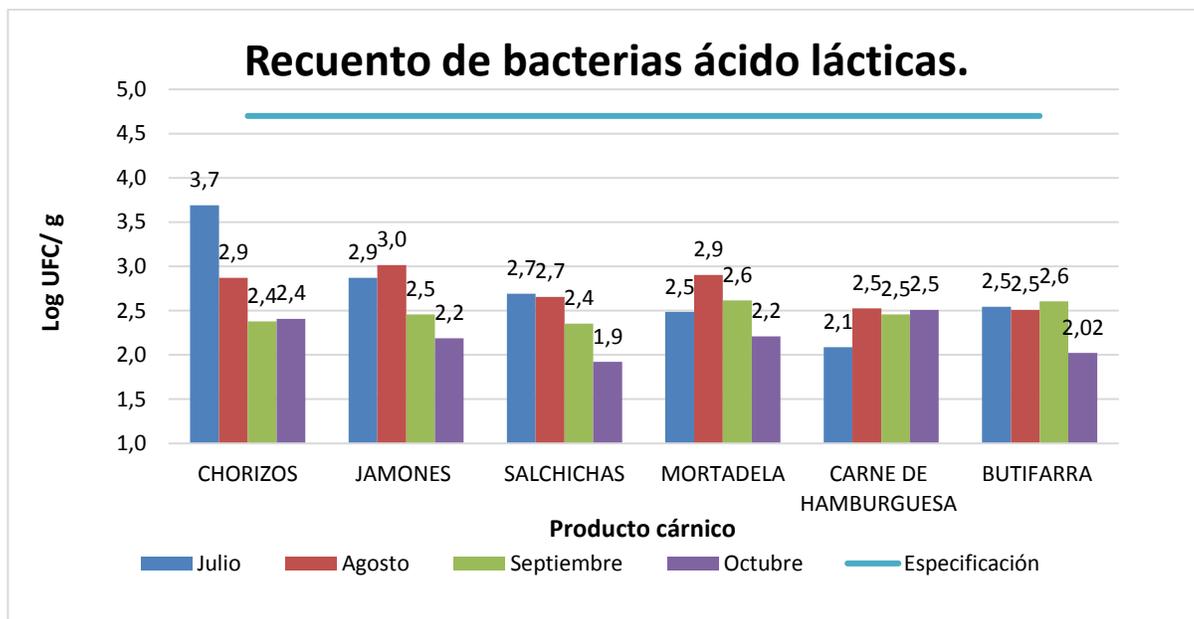


Figura 4. Análisis microbiológico de bacterias ácido-lácticas en los diferentes productos analizados durante los cuatro meses (Fuente: Autor).

Los análisis de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva y esporas de *Clostridium* sulfito reductor a productos, en los meses de julio a octubre, se evidenció ausencia de colonias presuntivas; reportándose como <100 y <10 UFC/g (resultados no mostrados) respectivamente.

La incidencia de patógenos como *Staphylococcus aureus* puede estar relacionada en productos que utilicen como materia prima la carne, esto ha sido confirmado mediante el aislamiento de esta bacteria de diversos productos cárnicos y de superficies en acero inoxidable en plantas de procesamiento (Pereira, 2015). En las industrias cárnicas la presencia de este microorganismo está vinculado con la materia prima cárnica ya que, al ser un habitante normal de la piel de los bovinos puede encontrarse en la canal luego de los procesos *post-mortem*. En otras palabras, los resultados obtenidos están definidos por las buenas prácticas de manufactura de cada línea de productos, el control del proceso térmico y el control de la temperatura de almacenamiento llevando a la ausencia de este patógeno (Martins y Kuaye, 2009).

Ciertos autores han demostrado que la presencia de bacteriocinas generadas por bacterias ácido-lácticas (BAL), actúa inhibiendo el desarrollo de *S. aureus* (Parada, et al.,2007) y *Listeria monocytogenes* en ciertos productos cárnicos tradicionales y curados (Prado, et al.,2000). De acuerdo con esto, cabe la posibilidad de que el contenido de BAL en los productos mencionados en la Fig. 4 pudo ayudar a eliminar la posible contaminación de *S. aureus*.

### 7.2.3 Recuento de Coliformes Totales y *Escherichia coli*.

Los resultados de los análisis a todas las líneas de productos, durante los cuatro meses, no reportaron crecimiento para *E. coli* reportándose  $<10$  UFC/g, obteniéndose un porcentaje de cumplimiento del 100%, de acuerdo con las especificaciones microbiológicas establecida en la NTC 1325 (Fig. 5).

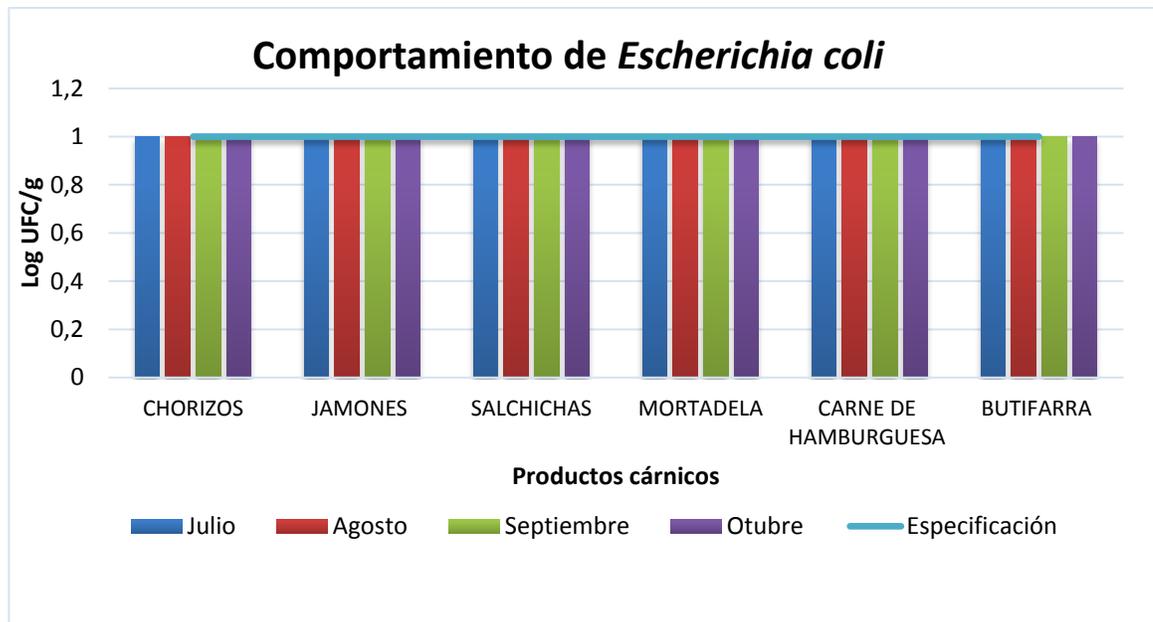


Figura 5. Análisis de *Escherichia coli* en derivados cárnicos elaborados durante cuatro meses (Fuente: Autor).

No se presentó crecimiento de este tipo de microorganismo, para el mes de agosto y septiembre en ninguna línea de productos, reportándose como  $< 10$  UFC/g. Dada la especificación normativa todos los recuentos obtenidos durante los cuatro meses, estuvieron dentro del límite máximo permitido correspondiente a 500 UFC/g establecido en la norma ya mencionada (Fig. 6).

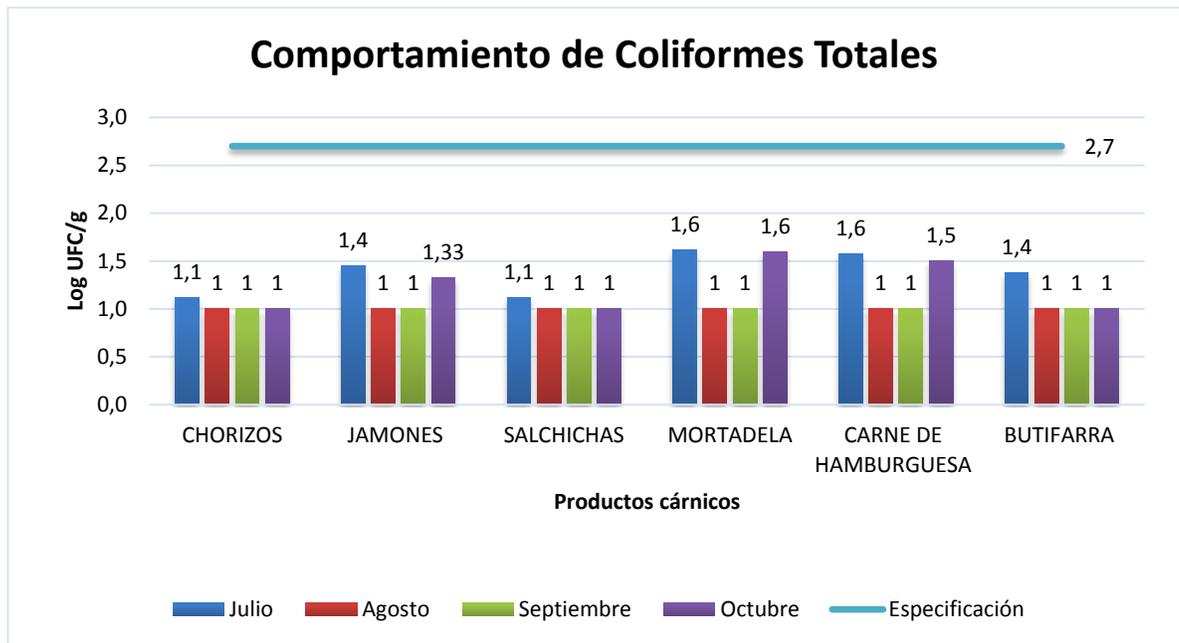


Figura 6. Análisis microbiológico de Coliformes Totales en derivados cárnicos elaborados durante cuatro meses (*Fuente: Autor*).

#### 7.2.4 Detección de patógenos en producto terminado

Los resultados obtenidos de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp a través del equipo de detección molecular 3M™. en todas las muestras de producto terminado, los cuales se analizaron durante los meses de julio a octubre arrojaron un resultado negativo (no generando picos; Fig.7).

De esta manera, se puede confirmar que la ausencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. está relacionada exclusivamente a la adecuada limpieza y desinfección de áreas de procesamiento; particularmente en el área de empaques, siendo esta un factor de riesgo y la parte final donde el operario, las superficies y equipos están en contacto con el producto terminado a través de procesos de tajado o separado generando contaminación cruzada. Además, el control de procesamiento térmico y la sostenibilidad de la temperatura permiten garantizar la eliminación de estos patógenos (Muñoz, *et al*, 2013 y FSA, 2017).

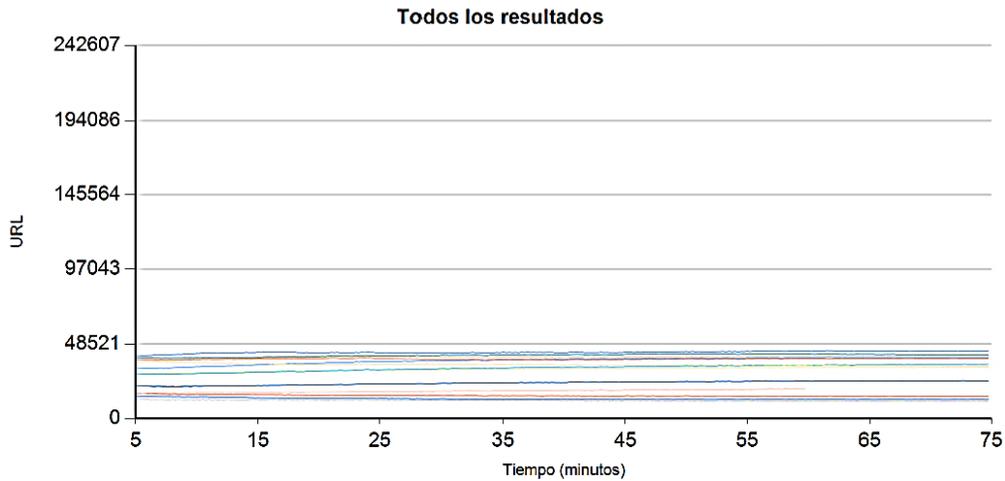


Imagen 1. Corrida generada por el software de detección molecular 3M™. Ausencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. en los diferentes productos cárnicos analizados (Fuente: software de detección molecular 3M™).

### 7.3 CONTROL INTERNO DE PLANTA

#### 7.3.1 Análisis ambiental

Para cada punto de muestreo (bodega, deshuese, empaques y producción) se tomó un número específico de puntos de acuerdo con el plan de muestreo (datos no mostrados). El área de producción presentó el menor porcentaje de cumplimiento durante los cuatro meses de análisis, el área de empaques mostró cumplimiento dentro del límite máximo establecido en cada análisis realizado (Fig. 7).

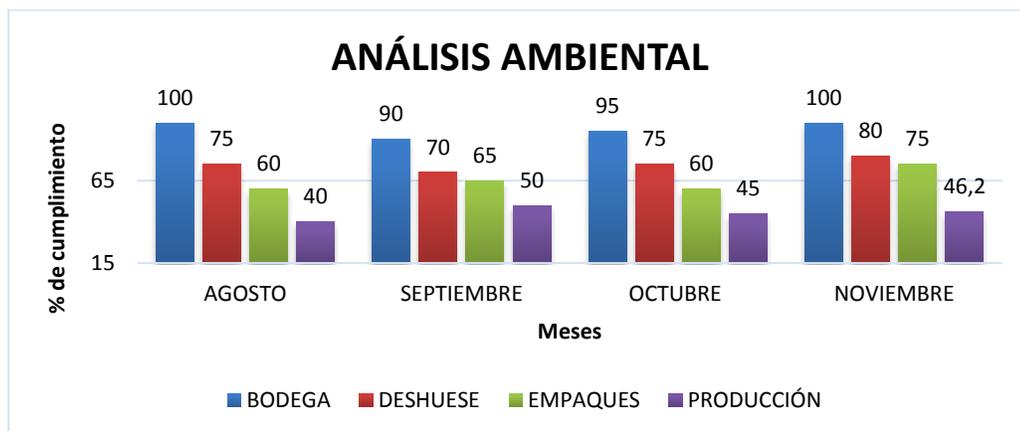


Figura 7. Porcentaje de cumplimiento para Aerobios mesófilos, mohos y levaduras en las diferentes áreas que comprende la industria.

La *Figura 7* muestra que la calidad del ambiente correspondiente al área de producción es deficiente, lo que indica que al ser un área donde el manejo de materia prima cárnica se da sin un previo proceso térmico permitiendo que la contaminación que se presente en las superficies de las canales se propague al medio ambiente y de este modo incrementa la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos, mohos y levaduras.

Además, estos resultados pueden indicar una inadecuada limpieza, sanitización e inapropiado manejo de materias primas y en concordancia con (Moreno, 2013), las superficies, manipuladores, equipos y utensilios que presenten un alto conteo de estos microorganismos pueden favorecer el incremento al medio ambiente.

En productos de origen animal, la cuantificación de la población de microorganismos aerobios mesófilos de las superficies de las canales se utiliza comúnmente para proporcionar datos que indiquen el grado de higiene higiénico-sanitaria durante las operaciones de sacrificio, y la evisceración.

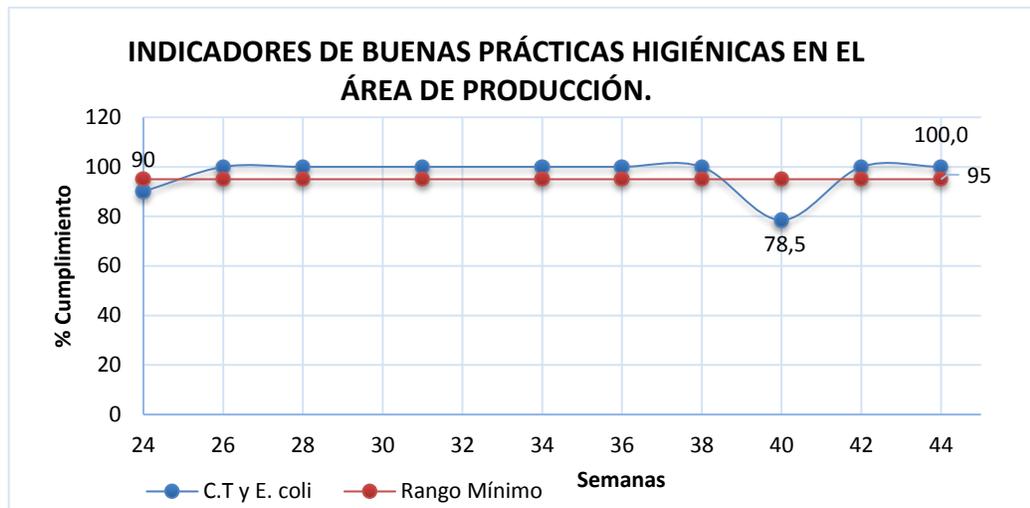
Añadiendo a esto, patógenos como *Salmonella* spp. y *Listeria monocytogenes* pueden llegar a sobrevivir en este tipo de ambientes donde se presentan condiciones de alta humedad y concentraciones de oxígeno adecuado para su desarrollo (FSA,2017). Por tanto, es importante y así como lo señala (Mead,2004) mantener ambientes refrigerados y áreas de procesamiento con una adecuada limpieza y desinfección.

### **7.3.2 Control de manipuladores**

Los resultados que se expresan a continuación, son datos reales obtenidos semanalmente, de manipuladores del área de empaques; los resultados de manipuladores del área de deshuese y de producción se obtuvieron con una frecuencia quincenal, los resultados se presentan, mediante porcentajes de cumplimiento, donde el límite mínimo permitido internamente es de 95%.

#### **7.3.2.1 Área de producción.**

En la *Figura 9* se presenta el porcentaje de cumplimiento del adecuado lavado y desinfección de manos en los operarios de esta área. Es presentado durante los meses de Junio a Octubre, donde la semana 24 (90%) y 40 (78,5%) presentaron porcentajes inferiores al índice establecido internamente (95%), en las demás semanas el porcentaje fue del 100%.



*Figura 8. Comportamiento del lavado de manos en los manipuladores del área de producción mediante el análisis de Coliformes Totales y E. coli. (Fuente: Autor).*

En este sentido, los resultados para la semana 24 y 40 implican de cierto modo un riesgo para el proceso de elaboración de los productos debido, a que la presencia de estos microorganismos luego del lavado y desinfección indica inadecuado proceso de limpieza y sanitización del manipulador.

Por tal motivo, se llevó a cabo un proceso de mejoramiento, el cual estuvo constituido por capacitaciones a los manipuladores de alimentos; con el objetivo de afianzar los conocimientos en la higiene y el proceso de manufactura.

### 7.3.2.2 Área de deshuese.

En la Figura 9 se presenta el porcentaje de cumplimiento para el lavado y desinfección de manos en los operarios de esta área, presentado durante los meses de junio a octubre, todas las semanas analizadas presentaron porcentajes de cumplimiento superior al límite mínimo establecido internamente (95%), siendo la semana 32 la que presentó en menor porcentaje de cumplimiento (96%).

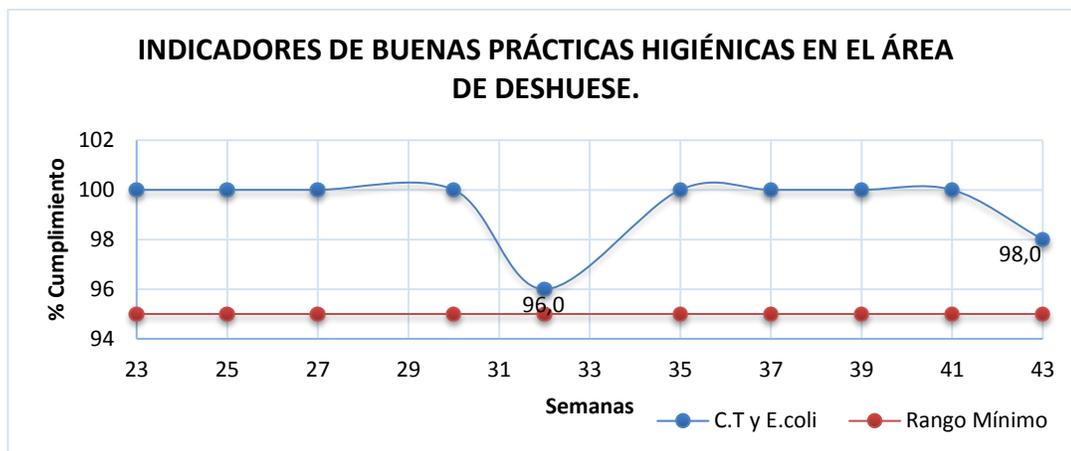


Figura 9. Comportamiento del lavado de manos en los manipuladores del área de deshuese mediante el análisis de Coliformes Totales y *Escherichia coli* (Fuente: Autor).

Lo anterior da informar que hubo un adecuado proceso de limpieza y desinfección de cada operario analizado en dichas semanas; por tanto, el proceso y el conocimiento que poseen son los correctos. Esto permite garantizar de cierto modo la seguridad alimentaria en los procesos generados en la industria, lo que conlleva a garantizar la calidad de los productos elaborados.

### 7.3.2.3 Área de empaques

la Figura 10, se presenta el porcentaje de cumplimiento para el lavado y desinfección de manos en los operarios de esta área, presentado durante los meses de Junio a Octubre, donde la semana 28 (96%), 35 (98%) y 40 (99%) presentaron porcentajes inferiores al 100%, siendo la semana 28 la más cercana al rango mínimo establecido internamente (95%), en las demás semanas el porcentaje fue del 100%.

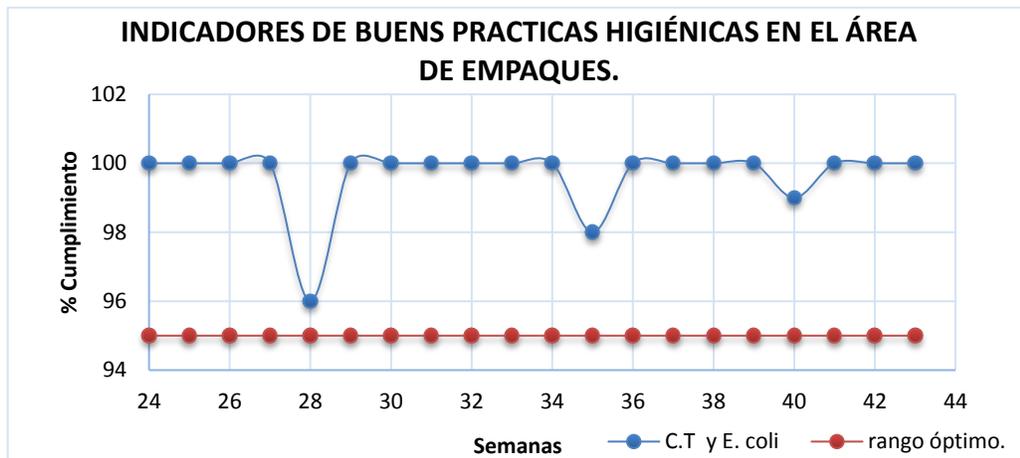


Figura 10. Análisis microbiológico de Coliformes Totales y *E. coli* en manipuladores del área de empaques durante la semana 24 del mes de junio hasta el mes de noviembre (Fuente: Autor).

En este sentido, la higiene que se presentó en los manipuladores de alimentos de esta área es la apropiada lo que permitió asegurar la calidad del producto final dado que estos están en contacto directo con el producto luego de ser sometido al proceso de cocción, lo que sugiere que la contaminación se da propiamente mediante el contacto con superficies contaminadas y manipuladores portadores de estos microorganismos; cabe resaltar que si el proceso de tiempo y temperatura no se lleva acabo de la forma apropiada también puede ocasionar el desarrollo de crecimiento bacteriano.

### 7.3.3 Superficies de Empaques.

Los resultados generados tras análisis de microorganismos indicadores (aerobios mesófilos, coliformes Totales y *Escherichia coli*,) en las semanas 28, 35 y 37 correspondientes, a meses como lo son Julio, Agosto y Septiembre; se obtuvo un porcentaje de 95%, 95% y 98% de cumplimiento, en el mes de Octubre presento durante todas las semanas de análisis un porcentaje de cumplimiento del 100% (Fig. 11).

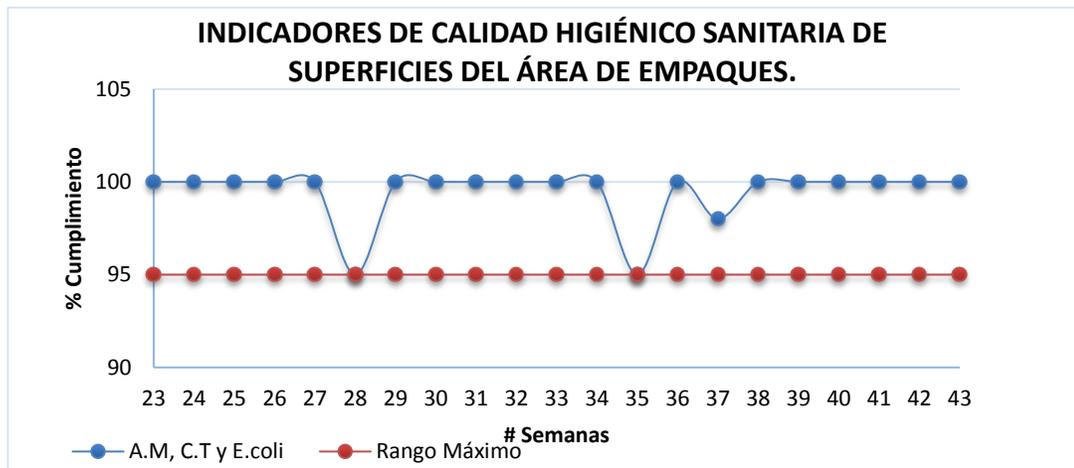


Figura 11. Comportamiento del análisis de Aerobios mesófilos, Coliformes Totales y *Escherichia coli* para superficies de equipos y utensilios del área de empaques durante los meses comprendidos entre junio-Noviembre (Fuente: Autor).

Lo anterior manifestó la correcta limpieza y desinfección de equipos, utensilios, superficies, techos, pisos y en concordancia con lo ya dicho la buena limpieza y desinfección de los manipuladores, garantizando la calidad microbiológica y por ende inocuidad del producto final.

### 7.3.3.1 Detección de *Listeria monocytogenes* en superficies de empaques.

A partir de los resultados generados tras análisis microbiológicos de *Listeria monocytogenes*, en los diferentes puntos del área de empaques, se presentó un resultado positivo para una de las superficies de contacto indirecto con productos de esta área, la curva arrojada por el software corrobora la información del resultado, las líneas horizontales en la gráfica, expresan el único resultado positivo de superficie en la cual se encontró el microorganismo patógeno.

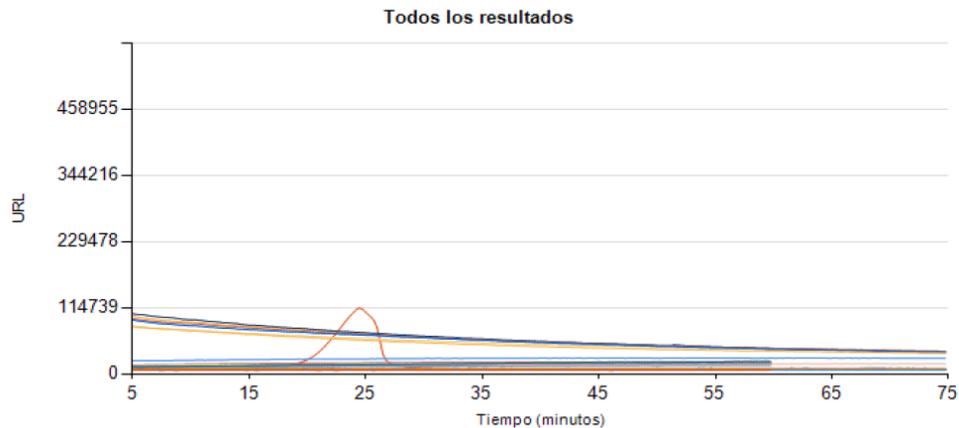


Imagen 2. Corrida generada por el software de detección molecular 3M™. Presencia de *Listeria monocytogenes* en uno de los puntos de muestreo (Fuente: software de detección molecular 3M™).

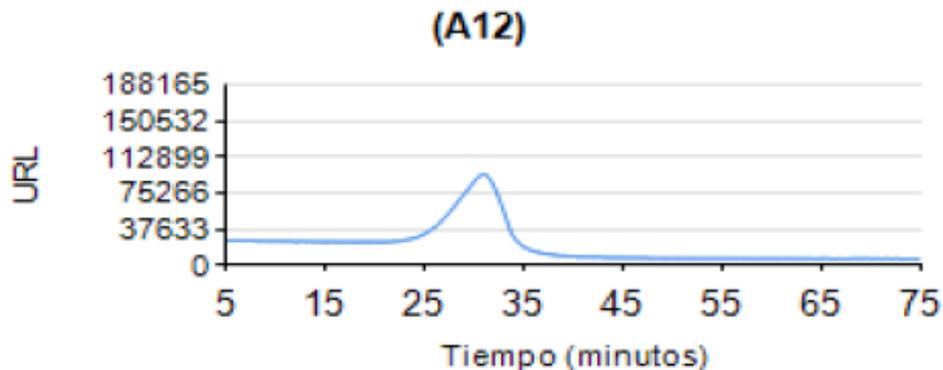


Imagen 3. Corrida generada por el software de detección molecular 3M™. Presencia de *Listeria monocytogenes* en punto de muestreo sifón (software de detección molecular 3M™).

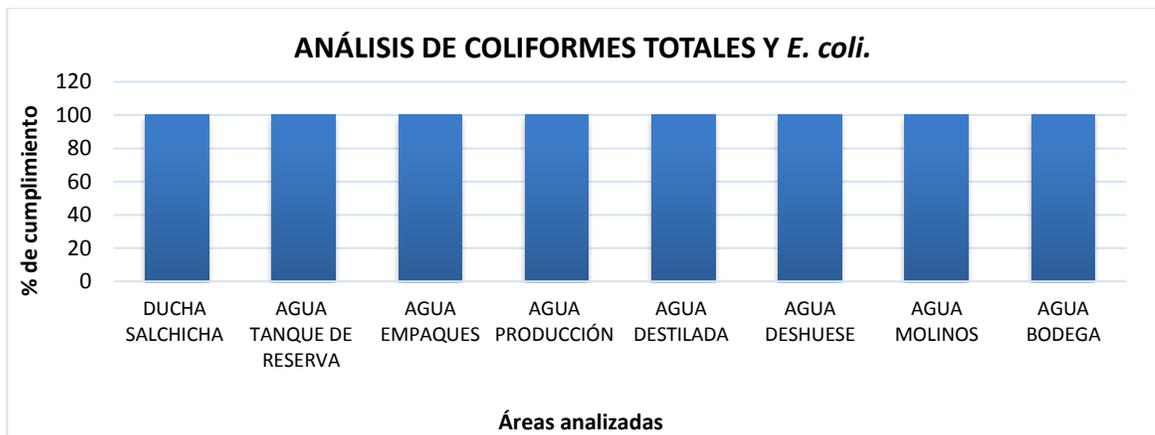
La presencia de *L. monocytogenes* pudo estar relacionada por diferentes medios: llantas de los carros de transporte de producto terminado, canaletas o desagües contaminadas, operarios portadores en su calzado del microorganismo. Para el caso de canales contaminadas, muchos animales pueden ser portadores asintomáticos y en el momento del sacrificio del animal, la canal se contamina. También los utensilios pueden ser vehículos de contaminación y por tanto esta bacteria coloniza fácilmente las manos de los operarios permitiendo de este modo el contacto con superficies limpias (Moreno, 2013).

Así mismo, Meloni *et al.* (2009), manifiestan que la presencia de *L. monocytogenes* en productos cárnicos está asociada a contaminación cruzada con carnes crudas, equipos y áreas de procesamiento, áreas de refrigeración, áreas de empaque y/o personal de establecimiento

En cuanto a la presencia en el sifón se da porque este microorganismo se desarrolla en ambientes con alta humedad y con alto contenido de nutrientes, por tal motivo esta bacteria es fácilmente encontrada en desagües o en áreas con agua estancada (Moreno, 2013).

### 7.3.4 Análisis microbiológico de aguas.

La *Figura 12* muestra los resultados microbiológicos realizados a los puntos de toma de agua que son utilizados en las labores de preparación de los productos cárnicos y la limpieza de las instalaciones, personal, equipos y utensilios. Se indica los resultados expresados en porcentaje de cumplimiento para el mes de julio y octubre evidenciándose ausencia para coliformes totales y *E. coli*.



*Figura 12.* Porcentaje de cumplimiento de los meses de julio y octubre para análisis de Coliformes Totales y *Escherichia coli*.

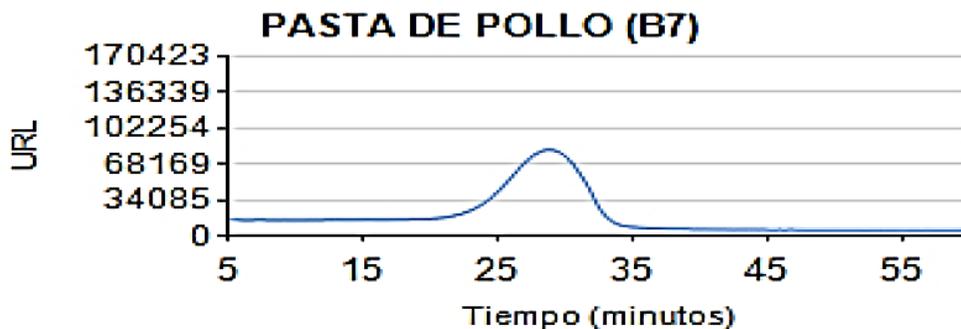
Un factor muy importante en la cadena de producción en cualquier industria es el agua, debido a que es requerida en grandes volúmenes y en diversas actividades pudiendo generar un riesgo en la elaboración de los productos. Con respecto a los resultados se puede observar, que el agua analizada en las diferentes áreas de la industria cumple con los criterios de calidad microbiológica establecidos en la resolución número 2115 del 2015, dado que no se detectó la presencia de coliformes totales y *E. coli* en 100 cm<sup>3</sup>. Esto representa que el acueducto que abastece el agua en la ciudad de Medellín y por ende a la industria presenta un adecuado proceso de potabilización del agua cruda, con la finalidad de hacerla apta para el consumo humano, garantizando de este modo que no se genere algún riesgo para el consumidor y en los productos elaborados.

Estos resultados no coinciden con los reportados por Ortiz *et al.* en el año 2007, al evaluar la calidad microbiológica del agua utilizada en industrias de alimentos Colombia, encontrado que el 36,4% de las industrias, presentaban *E. coli* y coliformes totales en al menos en una de sus muestras.

## 7.4 ANÁLISIS DE MATERIA PRIMA CÁRNICA.

Dentro del plan muestro establecido internamente se analizó semanalmente cortes para carne de cerdo y res, de igual forma pastas de pollo y pechuga de pavo de lo cual, durante los meses de análisis se detectó en dos muestras la presencia de *Salmonella* spp. en pasta de pollo y en un corte de carne de res mostradas por el software de detección molecular 3M™.

La Imagen 4 generó la curva que representa resultado positivo de forma individual para la pasta de pollo, a su vez la imagen 5 presenta tres curvas; color azul para la pasta de pollo, color rosado para el corte de res y finalmente color amarillo para el control positivo. Las líneas horizontales representan resultados negativos para las demás muestras.



*Imagen 4.* Grafica individual de la muestra reportadas por el Software de Detección Molecular 3M™ como positiva para *Salmonella* spp (Fuente: software de detección molecular 3M™)

La incidencia de *Salmonella* spp. en la pasta de pollo y el corte de carne de res está asociada debido a que este habita en el tracto intestinal de animales de granja como las aves, cerdos, y también en bovinos ((Lostroh y Lee, 2001). Esta bacteria puede llegar a contaminar la piel de la res o las plumas del pavo con materia fecal y si el proceso de evisceración no se efectuó correctamente, puede haber un incremento en las posibilidades de producir una contaminación.

Autores como Robles, (2010) menciona que al estar las canales cerca de materia fecal o la utilización de agua contaminada aumenta de cierto modo las posibilidades en que las canales se contaminen con este patógeno, a su vez el contacto generado entre los mismos animales; los pavos en la granja o los bovinos durante el transporte al matadero pueden transferirse microorganismos también, materia fecal dentro del lugar de transporte puede llegar a general mayor riesgo en la contaminación de estos animales.

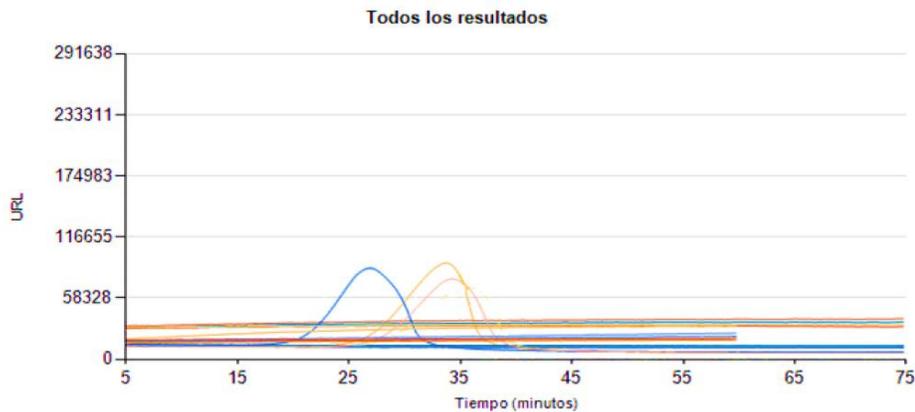


Imagen 5. Corrida generada por el software de detección molecular 3M™. Presencia de *Salmonella* spp. en dos de las muestras analizadas; color azul pasta de pollo, color rosado corte de res y finalmente curva de color amarillo para control positivo (Fuente: software de detección molecular 3M™).

Los recuentos mostrados en la Figura 13 para *Escherichia coli* muestran que todas las muestras analizadas de carne de res, pasta de pollo, carne de cerdo y pechuga de pavo durante los cuatro meses presentaron recuentos para esta bacteria, siendo la carne de res en el mes julio la que evidenció el mayor número de este microorganismo, y a su vez superó el índice máximo permitido por la Norma técnica colombiana para productos cárnicos frescos crudos (400 UFC/g).

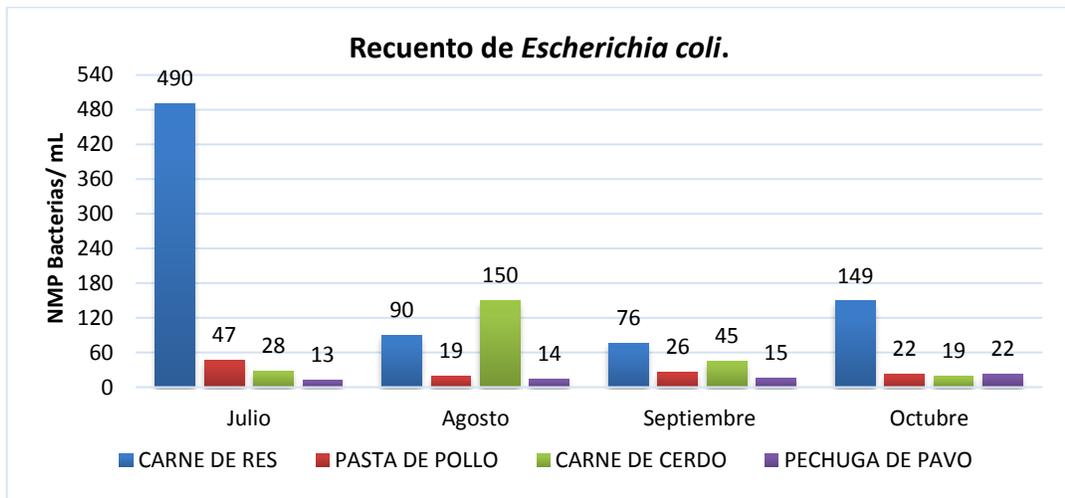


Figura 13. Análisis microbiológico (*Escherichia coli*) para materia prima cárnica analizada durante los meses de julio, agosto, septiembre y octubre.

Una explicación acerca de la elevada presencia de esta bacteria en la carne de res analizada en el mes de Julio está dada durante el proceso de sacrificio y la preparación de las canales. Además, el proceso de evisceración pudo haber

permitido la contaminación cruzada ya que, esta bacteria es habitante normal del tracto intestinal de estos animales. De igual manera, se puede relacionar a un inadecuado proceso de sacrificio dado que, en el escaldado de la canal y en la eliminación de la piel se disminuye en gran medida la población bacteria (Aliverti, 2012).

## 8. CONCLUSIONES

Al evaluar la calidad microbiológica de los productos cárnicos cocidos de la industria cárnicos Casablanca, se concluye que cumplieron los requisitos microbiológicos establecidos por norma 1325.

Se verificó la ausencia/presencia de *L. monocytogenes* en equipos y utensilios, donde se determinó un hallazgo positivo en un sifón del área de empaques, en los demás análisis no hubo presencia de este patógeno.

Se logró controlar el inadecuado lavado y desinfección de manos a través de los análisis de *E coli* y coliformes totales realizados a los operarios de las diferentes áreas, siendo el área de producción la que presentó el menor porcentaje de cumplimiento.

Al analizar la calidad microbiológica de la materia prima cárnica, se confirmó la presencia de *Salmonella* spp en una pasta de pollo y en un corte de carne de res lo cual genera un riesgo en la salud del consumidor, así mismo la presencia de *Escherichia coli* sobrepasando el límite máximo permitido por la norma, manifestando procesos de sacrificio y transporte de canales inadecuados.

Finalmente, de esta manera el paso por industria cárnicos Casa Blanca me permitió adquirir experiencia en este tipo de procedimientos, además de ayudar a mejorar las destrezas en los análisis de estos productos, así como también los manejos en el laboratorio y fortalecer aún más las capacidades y conocimientos adquiridos.

## 9. RECOMENDACIONES

Realizar de forma constante capacitaciones al personal manipulador de alimentos en lo referente a manejo correcto de equipos, limpieza y desinfección permitiendo de este modo garantizar la inocuidad del producto final.

Implementar el análisis ambiental de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. como requisito esencial para el control de estos patógenos.

Intensificar los planes de limpieza y desinfección para controlar la presencia de *Listeria monocytogenes* en las áreas de procesamiento de alimentos, garantizando de este modo la ausencia total en superficies y equipos.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- ALIVERTI, Virginia. Desarrollo y validación intra-laboratorio de una metodología para la detección *Salmonella* spp. en carne bovina molida. Desarrollo de estrategias de prevención y control. Tesis de maestría, Argentina: universidad Nacional de la Plata. Facultad de ciencias veterinarias, 2012. p 107.
- ALVARADO, S.; VÁSQUEZ V., María; SALDAÑA S., Wilton y VARGAS H., Aracely. *Clostridium perfringens* sulfito reductores en hamburguesas que se comercializan en mercados de la ciudad de Trujillo, Perú. En: REBIOL. Junio, 2013. vol. 33, no. 1, p.1-5.
- AOAC, OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. official method 966.24 coliform group and *Escherichia coli*. Ed 18. 2005. vol 1
- AOAC, OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. Detection method of *L. monocytogenes*. Ed 18. 2005. vol 1,17.10. p 200.
- AOAC, OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. Official method 997.02 Yeast and Mold Counts in foods. Ed 18. 2005. vol 1,17.2.09.
- AOAC, OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF AOAC INTERNATIONAL. *Salmonella* in selected Foods. 3M Molecular Detection Assay (MDA) *Salmonella* Method First action Ed 18. 2005. vol.1, 17.9.p 117.
- CDC, CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Foodborne germs and illnesses. 2017. Disponible en: <https://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html>
- CDC, CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Multistate outbreak of multidrug-resistant *Salmonella* 14, and *Salmonella* Infantis infections linked to pork (final update), 2015. [Revisado el 19 de septiembre de 2017]. Disponible <https://www.cdc.gov/Salmonella/pork-08-15/index.html>
- CDC, CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Multistate outbreak of drug-resistant *Salmonella* Enteritidis infections linked to raw, frozen, stuffed chicken entrees produced by barber foods (final update),2015. [Revisado el 19 de septiembre de 2017].Disponible en: <https://www.cdc.gov/Salmonella/frozen-chicken-entrees-07-15/index.html>
- CDC, CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Multistate outbreak of *Salmonella* Typhimurium infections linked to ground beef (final update), 2012. [Revisado el 19 de septiembre de 2017]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/Salmonella/2011/ground-beef-2-1-2012.html>

- CENTRO 3M. Detección de patógenos [En línea]. <http://jornades.uab.cat/workshopmrama/sites/jornades.uab.cat/workshopmrama/files/mds.pdf> [revisado el 19 de septiembre de 2017].
- CODEX ALIMENTARIUS. Código de prácticas de higiene para la carne. 2005. 55 p.
- DANE, DEPARTAMENTO ADMINISTRATIVO NACIONAL DE ESTADÍSTICA. Encuesta de sacrificio de ganado. 2017. [Revisado el 8 de septiembre de 2017]. Disponible en: <http://www.dane.gov.co/index.php/estadisticas-portema/agropecuario/encuesta-de-sacrificio-de-ganado>
- DURANGO, Johnny; ARRIETA, Germán y MATTAR, Salim. Presencia de *Salmonella* spp. en un área del Caribe colombiano: un riesgo para la salud pública. En: Biomédica. Marzo, 2004, vol. 24, no. 1, p. 89-96.
- FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Buenas prácticas de fabricación. 2014. [Revisado el 8 de septiembre de 2017]. Disponible en: [http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/quality\\_good.html](http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/quality_good.html)
- FSA, FOOD STANDARDS AGENCY. Meat Industry Guide. Chapter 13 Microbiological Criteria. 2017. 32 p. Obtenido de: <https://www.food.gov.uk/sites/default/files/Chapter13-Microbiological-criteria.pdf>
- ICONTEC, INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. COLOMBIA. Industrias alimentarias. Productos cárnicos procesados no enlatados. NTC 1325. Bogotá, D.C. 2008. 32p.,
- ICONTEC, INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. COLOMBIA. Microbiología. Guía general para el recuento de mohos y lavaduras. Técnica de recuento de colonias a 25°C. NTC 4132. Bogotá, D.C.1997.
- ICONTEC, INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. COLOMBIA. Carne y productos cárnicos. Preparación de la muestra. NTC 5554. Bogotá, D.C. 2007.
- ICONTEC, INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. COLOMBIA. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de bacterias mesófilas de ácido láctico. Técnica de recuento de colonias a 30°C. NTC 5034. Bogotá, D.C. 2002.
- ICONTEC, INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. COLOMBIA. Microbiología de alimentos y productos de alimentación animal. Método horizontal para la enumeración de mohos y

levaduras. Parte 2: técnica de recuento de colonias en productos con actividad acuosa (aw) inferior o igual a 0,95. NTC 5698. Bogotá, D.C. 2009.

ICONTEC, INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. COLOMBIA. Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de *Clostridium sulfito reductores* e identificación de *Clostridium perfringens*. Técnica de recuento de colonias. NTC 4834. Bogotá, D.C. 2000.

ICONTEC, INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN. Microbiología de alimentos y productos para alimentación animal. Requisitos generales y directrices para análisis microbiológicos. NTC 4092. Bogotá, DC.2009. 72p

INVIMA, INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS. COLOMBIA. 2017. Oficina de laboratorios y control de calidad – laboratorio microbiología de alimentos. [Revisado 23 de agosto de 2017].

INVIMA, INSTITUTO NACIONAL DE VIGILANCIA DE MEDICAMENTOS Y ALIMENTOS. COLOMBIA. 2016. Alerta sanitaria dirección de alimentos y bebidas. [Revisado 23 de agosto de 2017].

KASNOWSKI, Carmela M.; FRANCO, Robson M.; TRINDADE OLIVEIRA, Luiz A., *et al.* Detección caracterización serológica y antibiogramas de *Escherichia coli* aisladas de carne de ternera (babilla) entera y picada. En: RESPYN. Septiembre, 2008. vol. 9, no. 3, p 1-10.

LOSTROH, C. P. y LEE, C. A. The *Salmonella* pathogenicity island-1 type III secretion system.En: Microbes Infect. Noviembre, 2001. vol. 3, p.1281–1291.

MARTINS M.,Isabela; KABUKI Y., Dirce y KUAYE Y., Arnaldo. Determination and characterization of pathogens found in dairy products. En: Rev Inst Adolfo Lutz. Noviembre, 2009, vol. 34, p.185-192.

MEAD, GC. Microbiological quality of poultry meat: a review. En. *Bras. Cienc. Avic.* 2004, vol.6, no.3, p.135-142.

MELONI D, GALLUZO P, MUREDDU A, PIRAS F, GRIFFITHS M y MAZZETE R. 2009. *Listeria monocytogenes* in RTE foods marketed in Italy: prevalence and automated EcoRI ribotyping of the isolates. En: International Journal of Food Microbiology. Febrero, 2009, vol. 129, p. 166-173.

MINSALUD, MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCION SOCIAL. COLOMBIA. Resolución número 0719 de 2015. Bogotá, D.C. 2015. 20p.

- MINSALUD, MINISTERIO DE SALUD Y DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Resolución número 2690 de 2015. Bogotá, D.C. 2015.4p.
- MINSAP, MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA. Colombia. Resolución número 4241 de 1991. Bogotá, D.C. Abril, 1991.
- MOLINA MORENO, Silvia Nataly; MERCADO REYES, Marcela y CARRASCAL CAMACHO, Ana K. Efecto de tiempo y temperatura de cocción en chorizo inoculados artificialmente con *Listeria monocytogenes*. En: Universitas Scientiarum. Octubre, 2009, vol. 14, no. 2-3, p. 198-205.
- MORENO OCAMPO, Paola Andrea. Serotipificación molecular y susceptibilidad antimicrobiana de *Listeria monocytogenes*, aislada de carne y derivados de origen porcino, en el departamento del Tolima. Tesis de Maestría. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias, 2013. p 127.
- MORTAJEMI, Yasmine y LELIEVELD, Huub. Food Safety Management. Meat and Meat Products. 1 Ed. Estados Unidos. Academic Press, 2013, 29-40p.
- MPS, MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. Colombia. Resolución número 2115 de 2007. Bogotá, D.C. 2007. 23p.
- MPS, MINISTERIO DE LA PROTECCIÓN SOCIAL. COLOMBIA. Decreto 1500 de 2007. Bogotá, D.C. 2007. 60p.
- MUÑOZ, Ángela; CHAVES, José; RODRÍGUEZ, Edna y REALPE, María. *Listeria monocytogenes* en manipuladores de alimentos: un nuevo enfoque para tener en cuenta en los peligros de la industria alimentaria. En: Biomédica. Bogotá 2013. vol.33, no. 2, p.1-17.
- OIE, ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD. Sanidad animal mundial. 2017 [Revisado el 5 de septiembre de 2017]. Disponible en: <http://www.oie.int/es/sanidad-animal-en-el-mundo/el-sistema-mundial-de-informacion-sanitaria/world-animal-health/>
- OPS, ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. Peligros biológicos. 2016. [Revisado el 5 de noviembre de 2017] Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=10838%3A2015-peligros-biologicos&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10838%3A2015-peligros-biologicos&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=es)
- ORTIZ, Jaime E.; SILVA, E.; MURILLO, Carmenza y NAVA, Gerardo. Estudio de caracterización de la calidad microbiológica y fisicoquímica del agua utilizada en la industria de alimentos, Colombia. En: Biomédica. Mayo, 2010, vol. 30, p.421- 431.

- PARADA, Jose L.; RICOY C., Carolina; BIANCHI P., Adriane y SOCCOL, Carlos R. Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification, properties and use as biopreservatives. En: Brazilian Archives of Biology and Technology. Mayo, 2007, vol. 50, no.3. p. 523-530.
- PEREIRA PEREZ, Vannesa. Biofilmes monoespécie e multiespécies de patógenos gram-positivos de origem láctea em diferentes substratos. Tesis para título de maestra en ciencias de alimentos. Brazil: Universidad de Campinas. Facultad de Ingeniería de Alimentos, 2015, p. 95 -100
- PRADO, C.S.; SANTOS, W.L.M.; CARVALHO, W.L.M., MOREIRA, E.C. y COSTA, J.O.. Atividade antimicrobiana de bactérias lácticas de embutidos curados frente a *Listeria monocytogenes*. En: Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. Agosto, 2000, vol.52, no 4, p. 417- 423.
- ROBLES HUÍZAR, Mayela. Efecto de extractos de productos naturales para controlar la presencia de *Campylobacter jejuni* y *Salmonella* spp. en carne molida de pollo. Grado de maestro en ciencias, México: Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de ciencias biológicas, 2010.p 115.
- RTCA, 67.04.50:08, REGLAMENTO TÉCNICO CENTROAMERICANO. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Marzo, 2009. 36p. [Revisado el 10 de septiembre de 2017]. Disponible en: <http://www.mspas.gob.gt/images/files/drca/normativasvigentes/RTCACriteriosMicrobiologicos.PDF>
- SUMNER, John, PETRENAS C., Elena, DEAN C, Peter, DOWSETT C, Paul , WEST C, Geoff y WIERING C , Rinie y RAVEN C, Geoff. Microbial contamination on beef and sheep carcasses in South Australia. En: International Journal of Food Microbiology. Mayo, 2003, vol. 81, p.255-260.
- TORRES, Kirvis; POUTOU, Raúl; CARRASCAL, Ana; SIERRA, Sara y MERCADO, Marcela. Validación de PCR para detección de *Listeria monocytogenes* en carnes crudas de res y pollo. En: Revista MVZ Córdoba. Julio-diciembre, 2004, vol. 9, no. 2, p. 414-427.
- USDA, Sausages and Food Safety. 2013 [Revisado el 19 de noviembre de 2017]. Disponible en: [https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/meat-preparation/sausages-and-food-safety/ct\\_index](https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/meat-preparation/sausages-and-food-safety/ct_index)
- USDA, Sausages and Food Safety. Ham and Food Safety. [Revisado el 19 de noviembre de 2017]. Disponible en: [https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/meat-preparation/ham-and-food-safety/ct\\_index](https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/food-safety-education/get-answers/food-safety-fact-sheets/meat-preparation/ham-and-food-safety/ct_index)

USDA, UNITED STATES DEPARTMENT AGRICULTURE. Meat and poultry products hazards and control guide. 1997, 60p. Obtenido de: <http://www.haccpalliance.org/sub/haccpmodels/hzrdcontrolguid.pdf>

ZENDEJAS MANZO, Guadalupe S; AVALOS FLORES, Hector y SOTO PADILLA, Marisela Y. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. En: Biomed. Septiembre, 2014, vol. 25, no. 3, p.129-143.