



**DOCTORADO CONJUNTO EN CIENCIAS Y BIOCENCIAS AGROALIMENTARIAS
LUZ-CÓRDOBA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA (LUZ)
DEPARTAMENTO DE SANIDAD ANIMAL (UCO)**

***ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE CANALES
DE POLLO EN LOS MATADEROS DEL
ESTADO ZULIA, VENEZUELA.***

*Trabajo que presenta la Licenciada en Veterinaria Dña. Gladys L. Molero Saras
para optar al Grado de Doctor en Veterinaria*

Córdoba, España. Octubre 2012

TITULO: *ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE CANALES DE POLLO EN LOS
MATADEROS DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA*

AUTOR: *GLADYS L. MOLERO SARAS*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es

**ANALISIS MICROBIOLOGICO DE CANALES DE POLLO EN LOS
MATADEROS DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA.**



TÍTULO DE LA TESIS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE CANALES DE POLLO EN LOS MATADEROS DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA.

DOCTORANDO/A: GLADYS LISBETH MOLERO SARAS

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

La tesis que se presenta se ha desarrollado dentro del Programa de Doctorado de Biociencias y Ciencias Agroalimentarias, gracias al programa de Doctorado conjunto en Medicina y Sanidad Animal de la Universidad de Zulia con la Universidad de Córdoba. La toma de muestras y estudio laboratorial se ha llevado a cabo en la Unidad de Investigación de Microbiología Ambiental de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia, bajo la dirección de Dña. Marynes Montiel. Desde su inicio, hemos supervisado el trabajo junto con la Doctora Marynes, y ha sido presentado a diferentes congresos de investigación. Desde el mes de septiembre, la doctoranda está realizando una estancia en el Departamento de Sanidad Animal, donde hemos desarrollado los apartados de Resultados y Discusión y Conclusiones.

Consideramos que el trabajo presentado por la licenciada en Veterinaria, Dña. Gladys L. Molero reúne todos los requisitos necesarios para ser presentada y defendida ante tribunal para optar al Grado de Doctora en Veterinaria por la Universidad de Córdoba. Y para que conste se expide el presente informe

Los publicaciones/aportaciones a congresos derivados de la Tesis han sido:

- Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* durante el proceso de beneficio de pollo en plantas beneficiadas en el Estado Zulia, Venezuela. 2010. Revista Ciencia de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia. Vol. 18 (2): 108-114.
- Protocolo de aislamiento de *Listeria monocytogenes* en mataderos avícolas de la provincia de Zulia (Venezuela). Congreso Nacional Avedilla, 2012.
- Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en canales de pollo beneficiado en el Estado Zulia, Venezuela. XXXII Jornadas Venezolanas de Microbiología Dra. Beatriz Nieves Blanco. Venezuela, 2009
- Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* por el método convencional en canales de pollo beneficiado en el Estado Zulia, Venezuela. XXI Jornadas nacionales de investigación y posgrado Venezuela, 2010
- Detección de *Salmonella* spp. en el procesamiento de pollo en el Estado Zulia, Venezuela. XXI Jornadas nacionales de investigación y posgrado Venezuela, 2010

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 29 de Octubre de 2012

Firma de la directa

Profa. Marynes Montiel de Morales, MSc. PhD.



TÍTULO DE LA TESIS: ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE CANALES DE POLLO EN LOS MATADEROS DEL ESTADO ZULIA, VENEZUELA.

DOCTORANDO/A: GLADYS LISBETH MOLERO SARAS

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

La tesis que se presenta se ha desarrollado dentro del Programa de Doctorado de Biociencias y Ciencias Agroalimentarias, gracias al programa de doctorado conjunto en medicina y sanidad animal de la Universidad de Zulia con la Universidad de Córdoba. La toma de muestras y estudio laboratorial se ha llevado a cabo en la Unidad de Investigación de Microbiología Ambiental de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia, bajo la dirección de Dña. Marynes Montiel. Desde su inicio, hemos supervisado el trabajo junto con la Doctora Marynes, y ha sido presentado a diferentes congresos de investigación. Desde el mes de septiembre, la doctoranda está realizando una estancia en el Departamento de Sanidad Animal, donde hemos desarrollado los apartados de Resultados y Discusión y Conclusiones.

Consideramos que el trabajo presentado por la licenciada en Veterinaria, Dña. Gladys L. Molero reúne todos los requisitos necesarios para ser presentada y defendida ante tribunal para optar al Grado de Doctora en Veterinaria por la Universidad de Córdoba. Y para que conste se expide el presente informe

Los publicaciones/aportaciones a congresos derivados de la Tesis han sido:

- Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* durante el proceso de beneficio de pollo en plantas beneficiadas en el Estado Zulia, Venezuela. 2010. Revista Ciencias de la facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia. Vol. 18 (2): 108-114.
- Protocolo de aislamiento de *Listeria monocytogenes* en mataderos avícolas de la provincia de Zulia (Venezuela). Congreso Nacional Avedila, 2012.
- Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en canales de pollo beneficiado en el Estado Zulia, Venezuela. XXXII Jornadas venezolanas de Microbiología Dra. Beatriz Nieves Blanco. Venezuela, 2009
- Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* por el método convencional en canales de pollo beneficiado en el Estado Zulia, Venezuela. XXI Jornadas nacionales de investigación y posgrado Venezuela, 2010
- Detección de *Salmonella* spp. en el procesamiento de pollo en el Estado Zulia, Venezuela. XXI Jornadas nacionales de investigación y posgrado Venezuela, 2010

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 29 de Octubre de 2012

Firma de los directores

Fdo.: Carmen Tarradas Iglesias

Fdo.: Inmaculada Luque Moreno

1.- JUSTIFICACIÓN

Los alimentos de origen animal, carnes, leche, huevos, y sus derivados, juegan un importante papel como fuente de proteínas y calorías necesarias para el hombre, sobre todo en países subdesarrollados y en vía de desarrollo (Rivera y cols., 2006; Ramírez y cols., 2010; Galvao, 2012), por lo tanto la necesidad de producir estos alimentos en suficiente cantidad y adecuadas condiciones sanitarias se convierte en un reto mundial. El informe *Ganadería mundial 2011: el ganado en la seguridad alimentaria*, elaborado por la FAO indica que la población alcanzará los 9,1 billones para el 2050, cual supone un aumento del 34 por ciento sobre la población actual, además también asegura dicho informe que este incremento se producirá fundamentalmente en los países en vías de desarrollo. Estos datos señalan que la producción de alimentos deberá crecer en un 70 por ciento para poder alcanzar los tres billones de toneladas de cereales y 470 millones de toneladas de carne necesarios para el consumo (Galvao, 2012).

La producción de alimentos de calidad con garantías sanitarias debe ser un objetivo prioritario en todos los países, al tener los alimentos un papel protagonista en la transmisión de enfermedades y pudiendo constituir un riesgo potencial para la salud pública. Los sistemas de producción deben evitar en todo momento la contaminación de los alimentos con productos químicos y biológicos que supongan un riesgo para el consumidor. Entre estos riesgos, la presencia de agentes bacterianos y víricos en el producto final puede tener unas consecuencias nefastas para la salud pública, tanto por el número de individuos afectados, como por la gravedad de las enfermedades que producen, valgan como ejemplos la Encefalopatía Espongiforme Bovina, salmonelosis, *E. coli* O157:H7, estafilococias y otras consideradas (Rivera y cols., 2006) también dentro de las enfermedades emergentes, como la listeriosis. Según Santos y cols., (2011), las muertes de niños con cuadros gastroentéricos asociados a estos microorganismos en países en vías de desarrollo se cifra en 1,4 millones por año.

Hoy en día, el control y regulación de medidas que garanticen la seguridad sanitaria de los alimentos se aplican desde la producción primaria hasta

que el producto llega al consumidor (*de la granja a la mesa*). La aplicación de medidas que permitan reducir la contaminación de la carne a través de buenas prácticas en granjas, mataderos y puntos de distribución de los alimentos, así como el análisis y control de los puntos críticos (sistemas HACCP en la Industria), permitirán mejorar la calidad de los alimentos (Astorga, 2008). La aplicación de estas medidas debe ser homogénea en todos los países y respaldadas a nivel gubernamental. A través de la legislación y de sus regulaciones, el estado puede promover la adopción de patrones de calidad, seguridad alimentaria, y producción sostenible (Galvao, 2012). Para alcanzar estos objetivos en países en desarrollo, es fundamental llevar a cabo acciones coordinadas a nivel nacional, con apoyo internacional para la adopción de estrategias comunes de control, desarrollo de procesos, infraestructuras e investigación. Esto permitirá no sólo garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos, sino permitir el crecimiento y expansión del sector agropecuario, base de la economía de las zonas más desfavorecidas.

Según datos de la Federación Nacional de Avicultura de Venezuela (FENAVI), la carne de pollo es la principal fuente de proteínas, la industria avícola aporta cerca del 61 por ciento de la proteína de origen animal consumida por los venezolanos, de ahí que el sector avícola haya adquirido una gran importancia en los últimos años y actualmente representa el treinta por ciento del PIB agrícola total y alrededor del 48 por ciento de la producción animal, ocupando el sexto lugar como productor avícola de toda Latinoamérica. En cuanto a la distribución por Estados aproximadamente el 60 por ciento de la producción de pollo se concentra en la región central (estados de Aragua y Carabobo), el 20 por ciento en el oeste (sobre todo en el estado de Zulia), el 18 por ciento en la zona este y el dos por ciento al sur del país. La industria venezolana desde el punto de vista tecnológico, aplica en general prácticas modernas en sus procesos, logrando producciones bastante satisfactorias y eficientes. Sin embargo, hay que tener en cuenta que esta tecnología ha tenido que ser adaptada al clima extremo permanente de algunos estados del país.

Actualmente, en relación a la carne de pollo, existe una normativa Venezolana que establece los análisis a realizar en los mataderos para asegurar la calidad microbiológica de las canales refrigeradas y congeladas. Esta normativa hace referencia al recuento de aerobios mesófilos y *Salmonella* spp., (*Norma Venezolana Covenin 2343-86*) aunque no existen normas aplicadas a otros patógenos, como *Listeria monocytogenes* para canales de pollo, si hay una norma oficial para la presencia de este microorganismo en alimento en general (*Norma Venezolana Covenin 3718:2001*). El trabajo que presentamos pretende determinar la calidad microbiológica de canales de pollo envasadas procedentes de cinco mataderos del Estado de Zulia (Venezuela) y evaluar las condiciones de procesado. Los resultados obtenidos nos permitirán conocer la situación actual de la calidad sanitaria de las canales de pollo en el Estado de Zulia, y a su vez otorgará elementos para la toma de decisiones en el ámbito empresarial, con el objetivo de elaborar productos seguros para el consumo humano. En este trabajo se revisará también la normativa europea, con el objetivo de evaluar las posibles diferencias en cuanto a la metodología y aplicación de la norma. Podemos considerarlo pues, como un estudio preliminar y una toma de contacto de las medidas de control sanitarios aplicadas actualmente en las canales de pollo en el Estado Zulia de Venezuela.

Este trabajo ha sido realizado gracias al Programa de Doctorado en el que participa la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba con la Facultad Experimental de Ciencias Veterinarias de la Universidad de Zulia (Venezuela). Creemos de vital importancia el compromiso adquirido por el Estado Español con países en vías de desarrollo, no solo a nivel político y gubernamental, sino también a nivel local y sanitario para poder así implantar, en materia de veterinaria, normas sanitarias para obtener alimentos sanos y seguros para la población. Nuestra labor es sólo una gota en un océano, pero este apoyo al desarrollo puede funcionar como los cimientos necesarios e imprescindibles para conseguir en un futuro no muy lejano que la seguridad alimentaría venezolana alcance unos niveles comparables a los que ostenta cualquier país desarrollado.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Como consecuencia de la globalización, la industria alimentaria se ha desarrollado a pasos agigantados en relación a la adquisición de tecnología punta, a la implementación de sistemas de calidad basados en buenas prácticas de fabricación y en el análisis y control de riesgos. Todo esto unido a que hoy en día los consumidores de productos de origen animal, exigen y reclaman que dichos productos cumplan las normas de seguridad alimentaria que garanticen su inocuidad, hace que la seguridad alimentaria se considere un problema de Estado en todos los países medianamente desarrollados (Astorga y cols., 2002). La presencia de agentes patógenos en los productos de origen animal representan un riesgo para la salud pública, razón por la cual, en la actualidad no solo basta con producir la cantidad de proteína necesaria para alimentar a una población cada vez más numerosa, sino que además es indispensable que esos alimentos sean totalmente sanos para los consumidores (Molero y cols., 2006; Pérez- Rubiano y cols., 2008; Molero y cols., 2010).

El concepto de enfermedades transmitidas por el consumo de alimentos incluye aquellas patologías derivadas de la ingestión de productos alimenticios y/o agua que contengan agentes en cantidades tales, que afecten la salud del consumidor a escala individual o de grupos de población. Los alimentos se pueden contaminar en cualquiera de las etapas de la cadena alimentaria, desde la producción, transporte, almacenamiento, elaboración, distribución hasta el consumo (Marzocca y cols., 2004). Dentro de este grupo de enfermedades, hay dos tipos, intoxicaciones alimenticias e infecciones alimentarias (Rivera y cols., 2006).

Las *intoxicaciones alimentarias* son las producidas por la ingestión de toxinas formadas en tejidos de plantas o animales, o de productos metabólicos de los microorganismos en los alimentos, o por sustancias químicas que se incorporan a ellos de modo accidental, incidental, o intencional desde su producción hasta su consumo. Son de carácter fundamentalmente gastroentérico agudo, con notable y principal sintomatología tóxica, aparecen bruscamente

después de la absorción de alimentos contaminados con microorganismos o con metabolitos elaborados por ellos, por ejemplo *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum*. Por otro lado, las *infecciones alimentarias* son las producidas por la ingestión de alimentos y/o agua contaminados con agentes infecciosos específicos tales como bacterias, virus, hongos y parásitos, que en la luz intestinal puedan multiplicarse o lisarse y producir toxinas o invadir la pared del intestino y desde allí alcanzar otros aparatos o sistemas, los microorganismos tienen un período de incubación mucho más prolongado que las intoxicaciones (Sampers, 2010; Baquero y cols., 2006).

La transmisión de enfermedades a través del consumo de alimentos es un fenómeno ya conocido; sin embargo recientemente y en todo el mundo se ha constatado el aumento de su prevalencia, además de cambios en las etiologías predominantes y en la dinámica epidemiológica de las mismas. De este modo, se han producido fenómenos mundiales tales como la reaparición del Cólera epidémico en América, el aumento de la frecuencia de la *Salmonella enteritidis* vinculada al consumo de aves y huevos así como la emergencia de otros agentes como *Escherichia coli* 0157:H7 y/o *Listeria monocytogenes* (Voidarou y cols., 2011; Wilhelm y cols., 2011; Williams y cols., 2012).

La manipulación de los alimentos juega un papel fundamental en la incidencia y prevalencia de estas enfermedades, identificándose en la actualidad como uno de los principales problemas de salud pública, ya que estas enfermedades son consideradas como una de las mayores causas de morbilidad, tanto en países industrializados como en vías de desarrollo, donde, son a veces causa de elevada mortalidad. En Venezuela, la magnitud del impacto socio-económico que generan estas enfermedades es difícil de medir, ya que en la mayoría de los casos ni siquiera son informadas en los laboratorios de referencia (Gasánov y cols., 2005; Rojas y cols., 2006; Cantù y cols., 2007).

Como se ha indicado anteriormente en Venezuela la industria avícola ocupa un importante papel dentro del sector alimentario gracias a los innumerables avances tecnológicos logrados en tres de sus áreas fundamentales: infraestructura, manejo animal y mejora genética, todo esto unido al establecimiento de métodos de producción cada vez más eficientes, al alto contenido proteico y al bajo costo, hacen que el sector avícola sea en la actualidad el más importante generador de proteínas animales para el consumo humano (Pérez y cols., 2004; Espinosa y cols., 2004). En las últimas décadas, la industria ha conseguido que la carne de pollo esté disponible para un porcentaje elevado de la población, así pues el control de la producción debe ser un objetivo prioritario para la industria y los organismos que velan por la salud pública, para conseguir productos de calidad y seguros para el consumidor (Michanie, 2004).

Actualmente la tendencia al consumo de carne blanca y en especial de carne de pollo es cada vez mayor. Estudios a nivel mundial destacan que durante el proceso de sacrificio existe un riesgo potencial debido a la presencia de contaminación cruzada ya sea directa o indirecta, dando lugar a la presencia de microorganismos patógenos en la canal, con el riesgo que supone para los consumidores. De hecho, diferentes estudios señalan que la carne de pollo es responsable de un importante número de brotes alimentarios debido a las bacterias patógenas que se desarrollan durante el proceso del sacrificio (Pérez y cols., 2004; Marzocc y cols., 2006; Molero y cols., 2006; Rivera y cols., 2006; Molero y cols., 2010). En tal sentido, es de gran importancia conocer los niveles de contaminación microbiana en el producto durante las diferentes fases del proceso. Este conocimiento permitirá detectar los puntos críticos para reducir al máximo esta contaminación, consiguiendo producir alimentos inocuos, que no supongan un riesgo potencial para los consumidores de carne de pollo.

El proceso de sacrificio y/o beneficio (como se conoce en Venezuela) de las aves contempla las siguientes etapas: recepción, desplume, evisceración, inmersión en tanque de pre-enfriamiento, inmersión en tanque de enfriamiento,

empaques, almacenamiento en cavas de enfriamiento, despacho y distribución. A continuación, desarrollaremos como se llevan a cabo las distintas fases del procesamiento en los mataderos de aves en el Estado de Zulia.

El proceso da inicio con la **recepción** de las aves vivas en planta. Estas aves vivas son retiradas de los guacales o jaulas y se cuelgan de sus extremidades en un transportador aéreo o cadena de sacrificio, provisto de ganchos individuales. En el área de recepción, las aves son aturdidas para insensibilizarlas frente al dolor. Existen varios métodos de aturdimiento en los mataderos, pareciendo más efectivo es el aturridor por descarga eléctrica (Ricaurte, 2005). Una vez aturdidas, las aves son degolladas para permitir el desangrado.

A continuación, se procede al **desplumado**, para ello las aves son sumergidas en agua mantenida a una temperatura de 59 °C en una escaldadora. Esto produce una dilatación de los folículos que facilita la posterior eliminación de las plumas, sin causarle maltrato alguno a la piel. Este proceso lo realizan dedos de caucho, el agua contribuye a mantener las ranuras despejadas para facilitar la retirada de las plumas, dependiendo del tipo de escaldado utilizado, la presentación final de la piel será diferente. El desplumado puede afectar negativamente en la terneza de las aves, es importante lograr el equilibrio adecuado entre los tiempos y la temperatura.

Posteriormente, se realiza el corte de cabeza, extrayendo al mismo tiempo la tráquea, corte de patas y extracción de cloaca. En el área de **evisceración**, se realiza la extracción y separación de vísceras de la cavidad abdominal, que se puede realizar de forma manual o semi-automática. En cualquier caso, la separación del hígado, molleja y corazón se realiza en forma manual. Una vez evisceradas las aves ya hablamos de canales o pollos beneficiados (Norma Venezolana Covenin).

Una vez, desplumadas y evisceradas, se sumergen en el tanque de **pre-enfriamiento** (*prechiller*), que contiene agua a una temperatura de 36-37 °C, con el objetivo de limpiar y bajar la temperatura de las canales. Durante esta operación se eliminan por arrastre muchos microorganismos y se reduce su contaminación superficial. A continuación, las canales pasan al tanque de **enfriamiento** (*chiller*), que contiene agua a una temperatura de 0-2 °C, y una concentración de cloro de 50 ppm. En este tanque, las canales se mantienen durante 45 min aproximadamente, para conseguir que la temperatura de la canal sea inferior a 4 °C, y además, permite que las canales absorban cierta cantidad de agua (hidratación), inferior al 12 por ciento según la regulación de la *Norma Venezolana Covenin 2343-86*. La adición de cloro favorece la inhibición de los microorganismos contaminantes.

La canal sale automáticamente del tanque de enfriamiento y es colocada inmediatamente por los muslos en los ganchos de la cadena del área de **envasado** (empaque). El recorrido por la cadena debe ser de 2 minutos y 30 segundos aproximadamente. El área de envasado debe estar climatizada a una temperatura de 8 °C, para preservar la temperatura interna de la pechuga de las canales (Gaceta oficial 0684, 1997).

Durante las fases de procesado, existen puntos de riesgo para la contaminación del producto final, entre ellas, el desangrado y desplumado pueden favorecer la contaminación cruzada, de microorganismos que se encuentran en la piel y plumas, como *Staphylococcus*, *Pseudomona*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *E. coli* y *Salmonella* (Ricaurte, 2005, Cervantes, 2008). Asimismo, la fase de evisceración, pre-enfriamiento, enfriamiento y envasado, son puntos importantes de contaminación cruzada de otros agentes, que se encuentran de forma habitual en el contenido gastrointestinal de las aves aparentemente sanas. Durante estas fases, los manipuladores juegan un papel muy importante, siendo necesario que todo el procesado se lleve a cabo con Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), que constituyen un conjunto de normas que debe cumplir el personal que trabaja en

las industrias o lugares donde se producen, manejan o preparan alimentos, para evitar que éstos se contaminen y puedan ser origen de enfermedades (Cervantes, 2002, Catari y cols., 2006).

La aplicación de estas Buenas Prácticas de Fabricación en los productos cárnicos así como en cualquier producto alimenticio, reduce significativamente el riesgo de originar infecciones o intoxicaciones alimentarias a la población consumidora, además contribuye a mantener una imagen de calidad, reduciendo las posibles pérdidas de producto al realizar un control preciso y continuo sobre la edificaciones, equipos, personal, materias primas y proceso (Catari y cols., 2006; Cervantes, 2005).

La calidad microbiológica de las canales, es un reflejo de la carga microbiana de las aves vivas de corral y de la calidad de los procesos que se llevan a cabo en el matadero. Las aves que se incorporan a la cadena de sacrificio se pueden contaminar con microorganismos transportados en los intestinos, en la piel y entre las plumas. Estos incluyen tanto las bacterias entéricas y organismos derivados del medio ambiente, como otros microorganismos que pueden tener distintos criterios entre los que destacaremos *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, aerobios mesófilos y *E. coli* (Hoorfar y cols., 2000; Rojas y cols., 2006).

En los últimos años se ha descubierto la existencia de una serie de grupos microbianos cuya evaluación en la superficie de las canales puede indicarnos la calidad microbiológica, el grado de higiene en los procesos y el mantenimiento o no de la cadena de frío, además su presencia puede servir de ayuda para predecir la posible vida comercial del producto. Algunos de estos indicadores de la calidad microbiológica son la flora mesófila aerobia para alimentos almacenados sin necesidad de frío, los psicrotrofos, microorganismos capaces de crecer en refrigeración, y los microorganismos anaerobios (Pérez-Rubiano y cols., 2008). Por otro lado la seguridad microbiológica está determinada por la ausencia de

agentes patógenos en el producto final, como *Salmonella*, *Listeria*, *Clostridium*, *Campylobacter*, *E. coli*, entre otros, (Brow y cols., 1995, Pérez y cols., 2004).

En Venezuela, como se ha indicado anteriormente la calidad microbiológica de las canales de pollos está establecida a través de la *Norma Venezolana Covenin 2343-86 de pollo beneficiado*, la cual establece una serie de requisitos que deben ser cumplidos por las empresas que procesan pollos para su comercialización como canales envasadas (Tabla 1), esta norma contempla la determinación de aerobios mesófilos y *Salmonella* para las canales refrigeradas y congeladas. La Norma Venezolana Covenin es un conjunto de documentos oficiales, que definen los niveles de calidad de los alimentos fabricados en Venezuela, y son elaborados mediante consulta y estudio de las normas internacionales y regionales, empresas implicadas y laboratorios.

Tabla 1. Normativa para Pollo Refrigerado y Congelado.

Características	Pollo Congelado Límite				Pollo Refrigerado Límite			
	N	C	M	M	n	C	m	M
Aerobios Mesófilos (ufc/g)	5	3	5x10 ⁵	10 ⁷	5	3	10 ⁶	10 ⁷
<i>Salmonella</i> en 25 g	5	0	0		5	0	0	

Fuente: *Norma Venezolana Covenin 2343-86* Pollo beneficiado.

Leyenda: **n**: número de muestras del lote; **c**: número de muestras defectuosas; **m**: límite inferior y **M**: límite superior.

La salmonelosis es una de las causas más importantes de gastroenteritis en las personas producida por el consumo de alimentos contaminados (Miller y cols., 1995). Aunque son variados los productos que presentan un riesgo para el consumidor, son los derivados de las aves, representados por la carne y huevos, los principales responsables de los brotes de gastroenteritis en la mayoría de los países (Baquero y cols., 2006). Los datos publicados en EEUU señalan que el número de casos que se presentan al año se sitúa en torno al millón (CDC, 2012). En la Unión Europea, según datos de la EFSA (2009) se estima que se producen al año aproximadamente cien mil casos de salmonelosis en personas, con

pérdidas económicas que ascienden a los 3 billones anuales. En Venezuela es difícil medir el impacto económico que representan estas enfermedades, ya que en la mayoría de los casos no son notificados ante las autoridades sanitarias. No obstante, un estudio publicado en el año 2006, indicaba que entre los años 2000 y el 2002 en América Latina y el Caribe el número de casos superaba los 2500 por año (Galanis y cols., 2006), datos que confirman la ausencia de diagnósticos de prácticamente la totalidad de los brotes presentados.

En el hombre, los síntomas asociados a un brote de salmonelosis incluyen fiebre, diarrea, dolores abdominales y dolor de cabeza, que aparecen a entre las 12 y 72 horas y suelen mantenerse entre 4 y 7 días. La mayoría de las personas mejoran sin tratamiento, pero en ocasiones requieren hospitalización, siendo la enfermedad más grave entre los ancianos, niños y personas con enfermedades crónicas, donde se han descrito procesos septicémicos que pueden originar la muerte del individuo. Además de la importancia económica que suponen los gastos de hospitalización y bajas laborales, en los últimos años se ha demostrado el importante incremento de las resistencias antimicrobianas, con las graves consecuencias para el tratamiento de estos procesos (Marín y cols., 2011)

En Venezuela, uno de los microorganismos de mayor importancia a la hora de medir la calidad microbiológica en las canales de pollo es la presencia o ausencia de *Salmonella* spp., que supone un importante riesgo para la salud pública, siendo la carne de pollo uno de los alimentos de mayor consumo en la población de menos recursos (Marzocca y cols., 2004).

El género de *Salmonella* pertenece al orden *Enterobacteriales*, familia *Enterobacteriaceae*. Son bacilos Gram negativos, con un tamaño de 0,7-1,5 x 2-5µm, anaerobios facultativos no esporulados, no encapsulados y generalmente móviles por la presencia de flagelos peritricos (con la excepción de *S. gallinarum*, *S. pullorum* y las variantes inmóviles de algunos serotipos) (Le Minor, 1984). Bioquímicamente se caracterizan por no fermentar la lactosa (excepto las

subespecies *S. entérica Arizona* y *S. entérica diarizonae*), el adonitol, sacarosa, la salicina y 2- cetoglucanato; fermentan la glucosa con producción de gas (excepto *S. typhi*); no producen indol y no degradan la urea; descarboxilan la ornitina y la lisina; no diaminan el triptófano y la fenilamina; y producen ácido sulfhídrico (Le Minor, 1984). Además, se caracterizan por ser oxidasa negativa y catalasa positiva. Muchas de las características bioquímicas se han utilizado para el diagnóstico de *Salmonella* spp. y para el desarrollo de los medios de cultivo (Bergey's Manual, 2009).

Las *Salmonellas* pueden crecer en un rango de temperatura que varía entre 2 y 54 °C, aunque la multiplicación por debajo de los 7 °C sólo ha sido observada en condiciones *in vitro* y el crecimiento por encima de los 48 °C en algunos mutantes o en cepas particularmente adaptadas. La temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C, localizándose su nicho ecológico en el tracto gastrointestinal de los animales de sangre caliente (Cox, 1999; Brenner y cols., 2000). Se multiplican en un rango de pH de entre 6,5 y 7,5, aunque en medios de cultivos líquidos se ha descrito que puede llegar a crecer por encima de pH 9,5 y por debajo de pH 4 (Bergey's Manual, 2009).

La actividad de agua óptima para el crecimiento de *Salmonella* es de 0,995. En medios de laboratorio se multiplica a una actividad de agua de entre $a_w = 0,945$ y $a_w = 0,999$, mientras que en los alimentos se ha descrito crecimiento con una actividad de agua de hasta $a_w = 0,93$ (Cox, 1999). Son microorganismos muy resistentes, que soportan bien la congelación y la desecación, pudiendo persistir hasta seis años o más en un sustrato orgánico (Plym-Forshell y Eskebo, 1996; Schwartz, 1999) y tienen capacidad para sobrevivir a los procesos de limpieza y desinfección (Mc Lauchilin y cols., 2004; Rose y cols., 1999).

La taxonomía y nomenclatura de *Salmonella* es muy compleja. En la actualidad se utiliza el sistema de clasificación de Kauffmann-White, propuesto por LE Minor y Popoff en 1987. Este esquema de clasificación ha sido aceptado por el

CDC (Centro para el Control y la Previsión de Enfermedades) y por otros laboratorios de referencia. De acuerdo a este sistema (Brenner y cols., 2000) el género de *Salmonella* incluye dos especies, *S. enterica* y *S. bongori*, así como 6 subespecies dentro del *S. enterica*, que son las siguientes: *S. enterica subsp. Enterica* o I, *S. enterica subsp. Salamae* o II, *S. enterica subsp. Arizonae* o IIIa, *S. enterica subsp. Diarizonae* o IIIb, *S. enterica subsp. Houtenae* o IV, *S. enterica subsp. Indica* o VI (Popoff y cols., 2004).

La clasificación de *Salmonella* en diferentes serovares o serotipos se realiza en función de la estructura antigénica y actualmente se reconocen más de 2500 serovares (Astorga y cols., 2002; Popoff y cols., 2004). Aunque clásicamente se reconocen tres tipos de antígenos, somáticos (O), flagelares (H) y de superficie (Vi), la serotipificación de *Salmonella enterica* involucra fundamentalmente a los antígenos somáticos y los flagelares.

Los antígenos somáticos se encuentran en el Lipopolisacárido situado en la membrana externa, el cual está formado por polisacáridos (60%), lípidos (20.30%) y hexosaminas (3,5-4%). Estos antígenos somáticos se clasifican en antígenos mayores, que son aquellos que identifican un serogrupo, y en antígenos menores, que son aquellos que tienen un valor discriminatorio menor.

Los antígenos flagelares están formados por las flagelinas, proteínas de alto peso molecular que forma parte del filamento del flagelo. En total existen más de 60 antígenos flagelares reconocidos, producidos por cambios en la estructura primaria de las flagelinas (contenido y orden de aminoácidos). La mayoría de las cepas de *Salmonella* expresan dos fases flagelares pero también se conocen variantes afásicas, monofásicas y trifásicas.

El antígeno capsular es un homopolímero lineal constituido por ácidos N-acetilglucosaminourónico. Se encuentra en sólo tres serovariedades: *S. typhi*, *S. paratyphi C* y en algunas cepas de *S. dublin*.

En lo que respecta a la nomenclatura de los serovariedades o serotipos cabe indicar que esos pueden identificarse mediante su fórmula antigénica o por su nombre. De todos los serovares descritos, son *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* y *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* los más frecuentemente implicados en casos de salmonelosis humana a nivel mundial (Galanis y cols., 2006; Hendriksen y cols., 2009).

Tradicionalmente, el cultivo bacteriológico y la posterior identificación por pruebas bioquímicas han sido los métodos usados para el diagnóstico de la salmonelosis. En general, los métodos bacteriológicos incluyen tres fases, pre-enriquecimiento no selectivo, enriquecimiento selectivo y pruebas bioquímicas preliminares. El aislamiento a partir de muestras de tipo alimento, ambientales, entre otras, que contengan un número bajo de bacterias poco viables, puede ser difícil, por eso se aconseja el pre-enriquecimiento (Aho, 1992). Históricamente, se han desarrollado varios medios de pre-enriquecimiento. El caldo lactosa (CL), fue uno de los primeros en utilizarse ampliamente. Sin embargo, su uso ha decrecido porque la fermentación de la lactosa, que se produce durante la incubación, resulta en una acidificación del medio que puede inhibir o matar a las *Salmonellas* presentes (Hilker, 1975). Se han formulado otros medios de pre-enriquecimiento sin azúcar fermentable y con una gran capacidad tampón, como por ejemplo, agua de peptona tamponada (APT), el caldo universal (UB), el medio M9 y otros; la eficiencia de estos medios varía dependiendo de su capacidad tampón, describen que los medios ATP y M9 son mejores que el medio CL. Sin embargo, Hoorfar y cols., (1998) señalan que para muestras de cerdos y pollos el medio UB presenta una mayor capacidad tampón en comparación con el APT. Según la ISO 6579 la cantidad de muestra a inocular en agua peptona debe ser de una proporción 1:10 (w/v). Hay trabajos que demuestran que la sensibilidad del método aumenta con inóculos de 25 gramos frente a inóculos menores.

El enriquecimiento en un medio selectivo es una fase crítica ya que se suprime la microflora competitiva y permite la proliferación de *Salmonella* a niveles que puedan ser detectadas después en un medio sólido. Se han utilizado diferentes medios para la recuperación selectiva de *Salmonella*, aunque los más utilizados son el caldo Rappaport- Vassiliadis (RV), el caldo tetrionato y el caldo selenito (Waltman, 2000).

Finalmente, se aconseja la utilización de medios selectivos la selectividad involucra la incorporación de una sustancia inhibidora al medio que impida específicamente el crecimiento de otras bacterias. La característica de diferenciación de un medio de agar implica la adición de sustancias que permitan distinguir visualmente las colonias, para el aislamiento de *Salmonella* los caracteres más utilizados son la producción de ácido sulfhídrico (SH₂) o la incapacidad de fermentar la lactosa (lactosa negativo).

Se suelen utilizar para el aislamiento e identificación de *Salmonella* los medios de agar xilosa lisina desoxicolato (XLD) y xilosa lisina tergitol (XLT-4). En estudios realizados en Venezuela, se han obtenido buenos resultados utilizando ambos medios (Boscan y cols., 2005; Pérez y cols., 2004).

Para la identificación bioquímica de las *Salmonellas* se dispone de pruebas convencionales, algunos medios de cultivos preparados en tubo pueden cumplir los fines de la identificación; así la triada de medios agar lisina hierro (LIA), agar Kliguer hierro y agar motilidad, indol, ornitina (MIO) se muestran muy adecuados para la identificación de *Salmonella* spp. (Astorga y cols., 2002) (Tabla 4).

Los medios de agar sólidos deben ser juzgados no sólo por su capacidad para permitir el crecimiento de microorganismos que estamos aislando, sino también por su capacidad para diferenciar las colonias de otras bacterias. La falta de capacidad de discriminación puede dar lugar a falsos positivos, lo que

incrementa el tiempo de análisis de las muestras (Pignato y cols., 1995, Mallinson y cols., 2000).

Además de los sistemas de identificación basados en pruebas bioquímicas para el aislamiento e identificación de *Salmonella* y pruebas serológicas de aglutinación para diferenciación de serovares, la caracterización molecular es útil para diferenciar aislamientos, ya sea mediante electroforesis en agarosa convencional o electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), sistemas de tipificación de múltiples loci (MSLT), entre otras. Estas técnicas presentan un enorme poder resolutivo (Usera y cols., 1998), la PGFE se ha empleado con éxito en la tipificación epidemiológica de diferentes serovares de *Salmonella* (Usera y cols., 1998; Luque y cols., 2007).

Como se ha indicado anteriormente, otro grupo de microorganismos que se utilizan para evaluar la calidad microbiológica de los alimentos y que están incluidos en la *Norma Venezolana Covenin* son los microorganismos aerobios mesófilos. En este grupo se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 30°C en condiciones establecidas. Un recuento de aerobios mesófilos bajo no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, igualmente un recuento elevado no significa presencia de flora patógena, salvo en alimentos obtenidos por fermentación, donde no son recomendables los recuentos elevados (Torres y cols., 2002).

Un recuento elevado puede significar, por una parte una excesiva contaminación de la materia prima, deficiente manipulación durante el proceso de elaboración o incluso la posibilidad de que existan patógenos que sean mesófilos. Un recuento elevado también está relacionado con la inmediata alteración de las características organolépticas del producto. El recuento de aerobios mesófilos nos permite determinar los puntos críticos de control del procesado de alimentos, pues nos indican si las temperaturas aplicadas en los procesos fueron las adecuadas,

permiten verificar condiciones óptimas de almacenamiento y transporte. Asimismo, nos permite también obtener información acerca de la vida útil de los alimentos.

Existen varios métodos básicos para medir el número “total” de microorganismos en un alimento, uno de ellos es el recuento en placa (SPC), para la determinación del número de células viables. El método del número más probable (NMP) nos permite realizar el cálculo estadístico del número de células viables, mientras que el recuento microscópico directo (DMC) determina el número total de células, viables y no viables. Sin embargo, el recuento en placa es el método más utilizado para la determinación del número de células viables o unidades formadoras de colonias (ufc) en un alimento (Cano, 2006).

Existen diferentes tipos de medios de cultivo, entre los que podemos mencionar medios generales, que permiten el desarrollo de una gran variedad de microorganismos, y los enriquecidos, que son aquellos que favorecen el crecimiento de un determinado tipo de microorganismo, sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento del resto. También se pueden utilizar medios selectivos, que permiten el crecimiento de un tipo de microorganismo determinado, inhibiendo el desarrollo del resto. Por último, los medios diferenciales permiten el crecimiento de determinados microorganismos, así como su identificación preliminar. Para el recuento de aerobios mesófilos el medio más utilizado mundialmente es el agar para recuento en placa o agar triptona-glucosa-extracto de levadura. Las colonias obtenidas en el medio sólido se cuentan después de la incubación en aerobiosis a 30° C por 72 horas (Roberts y cols., 2000).

Los recuentos totales deben hacerse en función de uno de los siguientes factores; método de muestreo utilizado; distribución de los microorganismos en la muestra; naturaleza de la microflora del alimento; naturaleza del alimento; antecedentes del alimento; adecuación nutricional del medio de cultivo; temperatura y medio de incubación; pH, actividad agua, potencial de oxidación

reducción del medio; tipo de diluyente utilizado y número relativo de microorganismo en la muestra (Cano, 2006).

Una vez finalizado el proceso de incubación las placas se procede a realizar su lectura, seleccionando aquellas placas cuyo cantidad de unidades formadoras de colonias (ufc) se sitúa entre 30 y 300 colonias/placa, valores que proporciona, una alta precisión estadística. Para finalmente aplicar la formula; número de ufc/g es igual al número de colonias por el factor de dilución dividido por el volumen sembrado.

Listeria monocytogenes se ha considerado durante muchos años un patógeno de animales, no obstante su papel como patógeno humano transmitido por alimentos solo se hace evidente a partir de 1980, cuando aparecen en la literatura informes documentados de brotes de listeriosis, detectados por consumo de alimentos contaminados, de hecho hoy en día se considera uno de los agentes más importantes de las enfermedades de transmisión por consumo de alimentos (Torres y cols., 2004).

Esta ampliamente demostrado que *Listeria monocytogenes* es especialmente patógena para recién nacidos, mujeres embarazadas, ancianos y personas con el sistema inmune debilitado. Otras condiciones que pueden aumentar la susceptibilidad a la listeriosis son la diabetes, cirrosis, asma y colitis ulcerativa. Las personas sanas generalmente presentan poco riesgo, sin embargo, con alimentos muy contaminados cualquier persona puede resultar infectada (Torres y cols., 2004). Por otro lado, ciertas investigaciones sugieren que el uso de antiácidos que contenga cimetidina también pueda aumentar el riesgo de contraer listeriosis. Es una enfermedad con pronóstico muy grave que cursa con abortos en mujeres embarazadas, si bien los síntomas pueden ser relativamente suaves en la madre, la toxina puede transferirse al feto causando grave enfermedad o muerte fetal. Otros síntomas graves asociados a esta infección en el hombre es meningitis, encefalitis y septicemia (Davies y cols., 2001).

La *Listeria* taxonómicamente se clasifica en la Clase *Bacilli*, Orden *Bacillales*, Familia *Listeriaceae*, Género *Listeria*. Concentrándose en este género *Listeria* siete especies a mencionar: *L. innocua*, *L. welshímeri*, *L. seligeri*, *L. ivanovii*, *L. gravi*, *L. dentrificans* y *L. monocytogenes*. De ellas, sólo esta última se ha demostrado que es patógena para el hombre (Murray y cols., 2006).

Microbiológicamente se describen colonias como bacilos pequeños, Gram positivos, de extremos redondeados y con un tamaño de 0,4 a 0,5 μm de longitud. A partir de tejidos de animales o de cultivos muy recientes pueden presentar morfología cocoide, mientras que a partir de cultivos envejecidos se pueden apreciar cadenas cortas o formaciones en empalizada. No forman cápsula ni esporas, son aerobios-anaerobios facultativos. Pueden desarrollarse entre -0,4 y 45 $^{\circ}\text{C}$, es decir que pueden crecer a temperaturas de refrigeración, psicrótrofos. Además entre otras características microbiológicas se puede comprobar que con el ensayo de Chirstie, Atkins y Munich-Petersen (test de CAMP), estimula la producción de hemólisis, tolera concentraciones elevadas (10%) de cloruro de sodio y son móviles a 25 $^{\circ}\text{C}$, pero no a 35 $^{\circ}\text{C}$ (Walker, 1999).

Tolera condiciones de acidez y de alcalinidad, pudiendo crecer a pH entre 5,5 a 9,6 con un crecimiento óptimo a pH neutro o ligeramente alcalino. Como es una bacteria ampliamente distribuida en la naturaleza se puede aislar del suelo, materia vegetal en putrefacción, aguas residuales, pescados, pollos frescos y congelados, vegetales frescos y congelados, quesos, leche no procesada, desechos de mataderos, así como del tracto digestivo de humanos y animales asintomáticos. Es altamente resistente a los efectos de congelación, secado y calentamiento. Esta última característica es especialmente notoria ya que se trata de una bacteria que no forma esporas (Trepát, 2002; Reguera y cols., 1995).

Es un microorganismo mucho más resistente al calor que la mayoría de los patógenos involucrados en los alimentos, lo que le permite sobrevivir a temperaturas de congelación y desecación, también resiste niveles altos de nitritos

y ácidos, pudiendo hasta crecer en productos empaquetados al vacío (Davies y cols., 2001).

L. monocytogenes posee una constitución antigénica de 13 (1 al 13) factores antigénicos somáticos (O) termoestables y 4 (A, B, C, D) antígenos flagelares (H) termolábiles. De acuerdo con su estructura antigénica, se distinguen tres grupos serológicos: 1/2, 3 y 4 y trece serotipos: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e y 7 (Reguera y Cols., 1995) (Tabla 2).

Tabla 2.- Serotipos de diferentes especies de *Listeria*.

Especies	Serotipos
<i>Listeria monocytogenes</i>	1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4ab, 4b, 4c, 4d, 4e, 7
<i>Listeria ivanovii</i>	5
<i>Listeria innocua</i>	4ab, 6a, 6b.
<i>Listeria welshimeri</i>	6a, 6b.
<i>Listeria seeligeri</i>	1/2b, 4c, 4d, 6b.

Según algunos estudios realizados se ha podido determinar que *L. monocytogenes* es un patógeno con estructura clonal y su potencial patogénico difiere entre los diferentes grupos clonales, así como en la especificidad por el huésped y la adaptación a diferentes nichos ecológicos (Callejo y cols., 2008). Rasmussen y cols. (1995) demostraron que *L. monocytogenes* se divide en tres linajes según la secuencia de los genes de virulencia *hly*, *aip* y el gen *fla* que codifica para la flagelina. Posteriormente, Wiedann y cols., (1997), confirmaron la existencia de los tres linajes genéticamente distintos, mediante ribotificación y PCR-RFLP del gen de virulencia *hly*. El linaje I contenía los serotipos 1/2b, 3b, 3c y 4b, al linaje II se le adjudican los serotipos 1/2a, 1/2c y 3a y al linaje III corresponde los serotipos 4a y 4c. Parece ser que los aislamientos del linaje I incluían los clones epidémicos responsables de un gran número de casos humanos de listeriosis.

Para el aislamiento de *Listeria monocytogenes* en alimento se utilizan medios de enriquecimiento previo al aislamiento e identificación, cuya función es recuperar células fisiológicamente dañadas, permitiendo la multiplicación de las mismas y a la vez inhibir la flora competitiva. Utilizando posteriormente para el aislamiento e identificación medios como el agar tripticasa soya con extracto de levadura (ATSE), agar sangre que suministra nutrientes y co-factores necesarios para el crecimiento de la *Listerias*, el agar PALCAM que se basa en la hidrólisis de la esculina y la fermentación del manitol.

Los alimentos asociados más frecuentemente con *L. monocytogenes* son los productos listos para consumir, por ser alimentos con un tiempo de conservación prolongado a temperaturas de refrigeración y se consumen sin utilizar temperatura de recalentamiento (Miettinen y cols., 2001). La presencia de *Listeria* se ha podido detectar en una gran variedad de productos cárnicos, pescados y mariscos, leche y productos lácteos, ensaladas y vegetales (Harvery y cols., 1989; Pinner y cols., 1992; Pignato y cols., 1995; Walter, 1999), alimentos que tienen en común un alto grado de procesamiento y períodos de maduración que permiten el crecimiento de *L. monocytogenes* (Mc Lauchlin, 2004). Las infecciones o intoxicaciones alimentarias provocadas por *Listeria monocytogenes* poseen una gran importancia en países desarrollados, donde la industrialización se ha observado como factor que favorece la diseminación de este patógeno (Molero y cols., 2006).

El grado de contaminación y la incidencia de *Listeria* spp. varían según el tipo de alimento (Rodríguez y cols., 2009). En general, las carnes frescas presentan recuentos inferiores a 100 ufc/g, mientras que las carnes procesadas y los productos derivados de las aves presentan concentraciones mayores. En carne de aves y derivados se ha detectado la presencia de *Listeria*, con frecuencias muy variables, entre 23 a 60% (Trepai, 2002). Los alimentos de alto riesgo son frecuentemente productos con muchas manipulaciones, preparados para comer directamente, almacenados en refrigeración durante largos periodos

de tiempo y que son contaminados con *Listeria monocytogenes* (>100 ufc/g) (Figuera y cols., 2005).

En Venezuela son escasas las investigaciones dedicadas a la búsqueda de *Listeria monocytogenes* en alimentos de origen animal (canal de pollo), donde hace más preocupante la situación cuando sólo existe la *Norma Venezolana Covenin 3718:2001 para el aislamiento e identificación de Listeria monocytogenes en alimentos*, cuya normativa es general para todo tipo de alimentos (animal y/o vegetal). Si bien el aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* es actualmente considerado como patógeno emergente, no se realiza de manera rutinaria en las canales de pollo sacrificados, utilizando para determinar su inocuidad la *Norma Venezolana Covenin 2343-86 para Pollo Beneficiado*, cuya normativa como antes se ha mencionado solo determina la presencia de *Salmonella* spp. y aerobios mesófilos.

Es evidente que las infecciones por *Salmonella* spp., aerobios mesófilos y/o *Listeria* y otros agentes patógenos, son causas de pérdidas económicas más o menos notables para las explotaciones de diferentes especies de animales domésticos, pero es principalmente su repercusión desde el punto de vista de salud pública la que ha estimulado enormemente el debate relativo al diagnóstico de estas infecciones. Consecuentemente, hoy día existe un interés creciente en el desarrollo de técnicas de diagnóstico que puedan proporcionar información lo más precisa posible para implementar tanto la prevención en animales como su pronto diagnóstico en el hombre.

Si bien en la actualidad existen numerosos avances biotecnológicos que permiten el desarrollo de nuevos métodos para la detección de estos microorganismos en alimentos, proporcionando ventajas en cuanto a la eficiencia, sensibilidad y disminución del tiempo de detección en algunos países en vía de desarrollo, las principales técnicas utilizadas hoy en día para conseguir el aislamiento, identificación, caracterización de *Salmonella* spp., aerobios mesófilos

y *L. monocytogenes* sigue siendo método microbiológico convencional (Rivera y cols., 2006).

3. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad microbiológica de canales de pollo sacrificadas en el estado de Zulia, aplicando la normativa vigente en Venezuela (Norma Venezolana Covenin).

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Detección de *Salmonella* spp. y recuento de microorganismos aerobios mesófilos en canales de pollo, procedentes de cinco mataderos ubicados en el Estado de Zulia.
2. Determinar la presencia de *Listeria monocytogenes* en las muestras analizadas.
3. Evaluar la presencia de estos microorganismos en tres áreas del procesado: evisceración, pre-enfriamiento y enfriamiento.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Para llevar a cabo el muestreo y el análisis de las muestras seleccionadas se han seguido, como se ha indicado anteriormente, las normas vigentes en Venezuela para el Pollo Beneficiado *Norma Venezolana Covenin 2343-86*; *Norma Venezolana Covenin 1292-83* para el aislamiento e identificación de *Salmonella*; *Norma venezolana Covenin 902-87* para el recuento de Aerobios mesófilos, así como la normativa genérica en alimentos para la detección de *Listeria monocytogenes Norma Venezolana Covenin 3718:2001*.

Población Estudiada

El objetivo general de este trabajo es determinar la calidad microbiológica de las canales de pollos sacrificados en el estado de Zulia, situado al oeste de Venezuela. Como indicamos en la introducción, este estado sacrifica mensualmente el 20 por ciento de la producción de pollos de Venezuela, unas 16.000 toneladas, en 6 mataderos concentrados en los municipios de Maracaibo, San Francisco y Mara (Fig. 1).

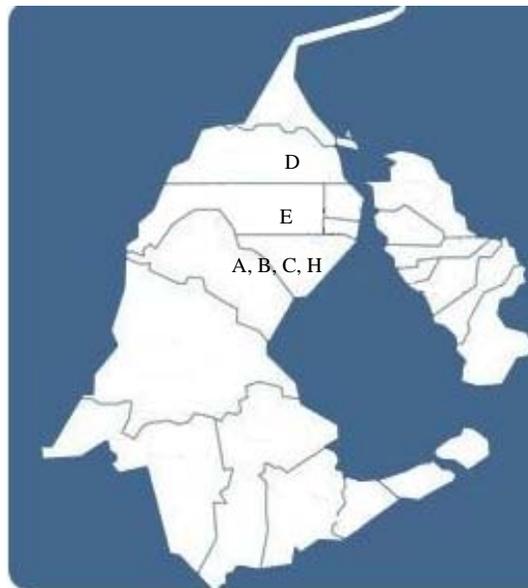


Figura 1. Mapa del Estado Zulia con la ubicación de las plantas sacrificadoras (A,B,C,D y E) utilizadas en el estudio.

Antes de iniciar el estudio se solicitó el consentimiento informado de todas las plantas de sacrificio para proceder a la toma de muestras, participando finalmente cinco mataderos (A, B, C, D y E), con una capacidad operativa de 15.000 aves/sacrificada/día en el caso de las plantas A y C, 20.000 la planta B, 35.000 la D y 74.000 la planta E. Según los datos oficiales aportados por el Departamento de Higiene de los Alimentos (2010), estos mataderos son las principales plantas sacrificadoras de pollos del Estado de Zulia, y gozan de la mayor demanda de consumo de carne de pollo del estado.

Los mataderos analizados utilizaban el mismo procedimiento desde la entrada de las aves en la línea de sacrificio hasta la obtención de las canales envasadas. Éste consistía en el *faenado* (que incluye insensibilización, desangrado, escaldado, desplume y evisceración, desprendimiento de la cabeza, lavado, corte de patas, extracción de cloaca, corte abdominal y extracción de vísceras), *pre-enfriamiento*, *enfriamiento*, *escurrimiento*, *selección*, *envasado* y *almacenamiento* (Figura 2). Sin embargo existían notables diferencias entre las plantas con respecto al nivel tecnológico utilizado en las diferentes áreas del proceso, siendo las plantas E y D las más avanzadas.

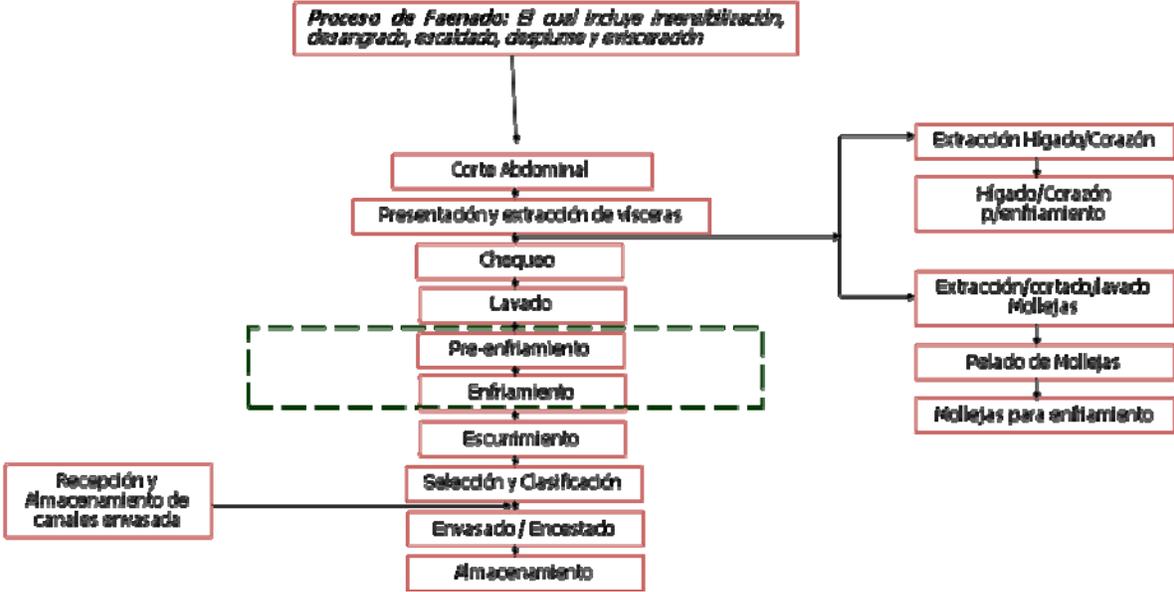


Figura 2. Diagrama del proceso de sacrificio del pollo.

Tipo de muestra y muestreo

La *Norma Venezolana Covenin 2343-86* para el estudio de la calidad microbiológica del pollo beneficiado, establece como unidad de muestreo el cuerpo completo del pollo, una vez finalizado el proceso de evisceración, del que se debe tomar una muestra de 25 gramos para el análisis microbiológico. La norma no establece, sin embargo, el punto de la cadena de sacrificio ni la zona del animal o la periodicidad con la que debe tomarse la muestra; tan solo indica que ésta debe consistir en 5 canales de pollo beneficiado por lote, “*conjunto de animales identificables obtenidos en un proceso determinado, en circunstancias prácticamente idénticas y producidos en un lugar dado y en un periodo de producción determinado*”.

Para cumplir con el primer objetivo de nuestra Tesis, el estudio de la calidad microbiológica de la canal, se decidió centrar el muestreo en el pollo ya envasado, por tratarse del producto final que llegará al consumidor. El plan de muestreo diseñado incluía el estudio de un lote por matadero, determinando el tamaño de la muestra en 6 canales por lote, cumpliendo de este modo con las recomendaciones del Departamento de Higiene de los Alimentos, Programa de carnes de aves del Estado Zulia para el control de Aerobios mesófilos y *Salmonella* (n = 5), e incluyendo una muestra adicional ante posibles pérdidas durante el procesado.

Se constató que las diversas granjas que sacrificaban en los cinco mataderos enviaban los animales pertenecientes a un mismo lote a lo largo de una semana, por lo que se decidió realizar el muestreo los lunes, miércoles y viernes, para evitar posibles sesgos de selección en el muestreo. Cada día se recogieron al azar 2 canales envasadas justo antes de ser introducidas en el embalaje final para su envío al comercio.

Otro objetivo de nuestro trabajo fue determinar la presencia de *Salmonella* spp., *Listeria* y aerobios mesófilos en diversos puntos del proceso, tomando para

ello cada día las siguientes muestras aleatorias: a) zona de evisceración, dos paquetes intestinales completos; b) tanque de pre-enfriamiento, dos canales de pollos y 1L de agua a 36 ° C; y c) zona de enfriamiento, dos canales de pollos y 1L de agua a 0 °C. Todas las muestras se recogieron en envases estériles adecuados, se cerraron herméticamente y se identificaron individualmente. Todas las muestras fueron enviadas en embalajes estancos y con placas de hielo-gel al laboratorio perteneciente a la Unidad de Investigación de Microbiología Ambiental de la facultad Experimental de Ciencias, de la Universidad del Zulia, Venezuela, y fueron procesadas inmediatamente tras su recepción. El número total de muestras obtenidas fue de 150, treinta en cada matadero o planta sacrificadora.

Tabla 3.- Distribución del muestreo por áreas y plantas

Planta	Contenido intestinal	CANALES			AGUA		TOTAL
		Canal pre-enfriamiento	Canal enfriamiento	Canal envasado	Agua pre-enfriamiento	Agua enfriamiento	
A	6	6	6	6	3	3	30
B	6	6	6	6	3	3	30
C	6	6	6	6	3	3	30
D	6	6	6	6	3	3	30
E	6	6	6	6	3	3	30
Total	30	30	30	30	15	15	150

Estudio microbiológico

En este trabajo se ha determinado la presencia de *Salmonella*, recuento de microorganismos aerobios mesófilos y la presencia de *Listeria monocytogenes* en todas las muestras obtenidas. El análisis se ha realizado siguiendo las normas publicadas en Venezuela:

- Detección de *Salmonella* (Norma Venezolana Covenin 1291-88)
- Recuento de Aerobios mesófilos (Norma Venezolana Covenin 902)

- Técnica microbiológica convencional *Norma Venezolana Covenin 3718:2001* para el aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* en alimentos.

La unidad de análisis de las canales de pollos consistió en una muestra del músculo iliotibial craneal derecho e izquierdo (muslo derecho e izquierdo), y del músculo pectoral torácico derecho e izquierdo (pechuga derecha e izquierda), hasta completar los 25 g por ser los cortes con mayor demanda de consumo.

La unidad de análisis del área de evisceración consistió en 25 gramos de contenido intestinal procedente de dos paquetes vísceras. Se tomaron asimismo 25 mL del agua procedente de los tanques (pre-enfriamiento y enfriamiento), respectivamente.

Se utilizó el mismo protocolo de pre-enriquecimiento para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp., y aerobios mesófilos

Pre-enriquecimiento: Se tomaron 25 g de cada muestra por separado de canales, contenido intestinal, y 25 mL del agua de los tanques. Se mezclaron cada una por separado con 225 mL del medio de pre-enriquecimiento (agua peptonada tamponada al 0.1%) en bolsas de polietileno, mezclando el contenido en un Stomacher®. Cada mezcla se dejó en reposo durante 1h aproximadamente, a temperatura ambiente en botes de vidrio estériles. Para posteriormente incubar a una temperatura de 35 a 37 °C durante 18 a 24 horas, en condiciones de aerobiosis.

Detección de *Salmonella* spp. (Norma Venezolana COVENIN 1291-88)

Luego de ser realizado el pre-enriquecimiento como se describe anteriormente se procedió con el protocolo de aislamiento e identificación de especies del género *Salmonella* incluye varias fases, que se desarrollan a continuación:

Enriquecimiento: Después del periodo de incubación, se transfirió 1 mL de cada cultivo por separado de la fase de pre-enriquecimiento a 10 mL del medio de cultivo Caldo Tetrionato (Biocen) y se incubaron entre 35 y 36 °C durante 24 h.

Aislamiento: Al finalizar la incubación, y con un asa estéril (3 a 5 mm), a partir del medio de enriquecimiento selectivo, se sembró sobre la superficie de placas de agar bismuto sulfito (BSA, Biocen) y agar xilosa lisina desoxicolato (XLD, Oxoid). El inóculo se extendió por toda la placa para obtener colonias aisladas. Las placas se incubaron invertidas a una temperatura de 35 a 37°C durante 24 h. Al final de la incubación se seleccionaron las colonias compatibles con *Salmonella* spp., es decir aquellas que en el medio Agar bismuto–sulfito aparecen como colonias planas, marrones o grises a negro, con o sin brillo metálico. El medio que rodea a la colonia generalmente es marrón al principio, cambiando a negro según transcurre el tiempo de incubación. En el agar xilosa lisina desoxicolato (XLD), se observaron colonias incoloras o ligeramente rosadas, con o sin centro negro.

Identificación bioquímica

Pruebas Bioquímicas Preliminares: Se transfirieron con un filamento 2 o más colonias típicas de cada medio selectivo empleado al medio Kligler o hierro tres azúcares (TSI, Difco) y agar lisina hierro (LIA, Difco), inoculando en tubo inclinado en profundidad y en la superficie siguiendo un trazo longitudinal. Los tubos se incubaron a una temperatura de 35 a 37 °C por un periodo de 24 a 48 h, observándolos al final del periodo de incubación. Los cultivos sospechosos de ser *Salmonella* muestran la siguiente reacción:

Agar TSI: bisel alcalino, de color rojo (no fermenta la lactosa y/o sacarosa) y lado de color amarillo (reacción acida por fermentación de la glucosa) con o sin producción de hidrogeno sulfurado, que se manifiesta por ennegrecimiento total o parcial del agar. Algunas especies de *Salmonella* pueden fermentar la sacarosa y/o la lactosa y producir acidez (color amarillo) tanto en el lado como en el bisel.

Agar LIA: se produce una reacción alcalina en el tubo (color púrpura) por descarboxilación de la lisina. En este medio puede también observarse ennegrecimiento total, parcial o ausente.

Pruebas bioquímicas confirmativas

A partir del medio de agar TSI se realizó la tinción de Gram para constatar la presencia en bacilos cortos, Gram negativos a los cuales se le realizaron las siguientes pruebas:

Prueba de la ureasa: con filamento estéril, se transfiere el cultivo de agar TSI a un tubo de caldo Urea. Se incuba durante 24 h a una temperatura de 35 a 37 °C conjuntamente con un tubo de caldo urea sin inocular. Después del periodo de incubación se observan los tubos. Los cultivos que producen amoníaco a partir de la urea (reacción positiva) producen una reacción de alcalinización que se manifiesta por un viraje del indicador (color rosado-fucsia). El color del caldo urea incubado sin inocular debe conservar el color original del medio. La *Salmonella* da negativo a esta prueba.

Prueba de malonato: a partir del medio agar TSI se transfiere con la ayuda de un asa de cultivo a caldo malonato (Difco). Se incuba a 35 °C durante 24 a 48 h, observando el cambio de coloración del indicador azul de bromotimol de verde a azul. La mayoría de las *Salmonellas* no utilizan el malonato, por lo tanto no se observa cambio de color en el medio.

Prueba de la fenilalanina: a partir del cultivo en medio de agar TSI se siembra por estría sobre el medio agar fenilalanina inclinado (Difco). Se incuba durante 24 h a 35 °C. Al final de la incubación se agregan gotas de solución de cloruro férrico al 10% en la superficie del cultivo. La aparición de una coloración verde al cabo de 1 o 2 minutos es indicativo de una reacción positiva. La *Salmonella* de reacción negativa.

Prueba del indol: a partir del cultivo en medio de agar TSI, se siembra en caldo triptonado (prueba del indol). Se incuba a 35°C por 24 h. Al final de la incubación se agregan gotas del reactivo de Kovacs a fin de revelar la presencia del indol. La aparición de un color rojo en la capa superficial del medio es indicativo de una reacción positiva (indol positivo). La *Salmonella* da una reacción negativa, sin embargo, deben anotarse los colores intermedios que varíen del naranja al rosado.

Tabla 4.- Perfil bioquímico compatible con *Salmonella*.

LIA	Kliguer	MIO	Urea	Citrato
K/SH ₂	K/AG/SH ₂ o K/A/SH ₂	Ornitina+/Indol- /motilidad+	-	+

Leyenda: K, alcalino; A, ácido, G, gas; SH₂, producción de sulfuro de hidrógeno (negro).

Fuente: Laboratorio Veterinario Avedila.

Recuento de Aerobios Mesófilos (Norma venezolana COVENIN 902)

Otro de los parámetros que se utilizaron para determinar la calidad microbiológica de las muestras fue el recuento de aerobios mesófilos, tal y como señala la *Norma Venezolana Covenin 2343-86*. La metodología utilizada se basa en las recomendaciones oficiales del país *Norma Venezolana Covenin 902*.

Tras la fase de pre-enriquecimiento, se tomó 1mL de cada muestra por separado, y se realizaron tres diluciones decimales (1:10; 1:100 y 1:1000) en agua de peptona, tomando de cada dilución 0,1 mL que se añadió a placas de Petri por duplicado. Se adicionaron a cada placa de 12 y 15 mL de Agar Base (Difco), que había sido esterilizado a 121 °C durante 15 minutos, temperado a 45-50 °C. Se mezcló convenientemente y se dejó solidificar sobre una superficie plana incubándose a 35 - 37 °C durante 48 h.

Finalizando el periodo de incubación, se seleccionaron las placas donde aparecieron entre 30 y 300 colonias. Con la ayuda de una cuenta colonias se contaron todas las colonias, que aparecían como pequeños puntos y se anotó la dilución correspondiente.

Los resultados se expresaron como recuento estándar por mililitro o gramo de muestra. El número de colonias obtenidas, se multiplico por la dilución correspondiente y se expresó como *Estimado de recuento estándar* en unidades formadoras de colonia (UFC) por g o mL la fórmula aplicada fue la siguiente:

$$\text{UFC/g o mL} = \frac{\text{No. de colonias} \times \text{dilución}}{\text{Volumen sembrado}}$$

Interpretación de resultados: Se consideran positivas aquellos resultados señalados por encima 10^6 ufc/g o mL.

Detección de *Listeria monocytogenes* (Norma Venezolana COVENIN 3718:2001)

Como se ha indicado anteriormente la detección de *Listeria monocytogenes* no se realiza de forma rutinaria en canales de pollo por el organismo oficial (Departamento de Higiene de los Alimentos Programa de carnes de Aves del Ministerio del Poder Popular Para la Salud), así pues la norma venezolana carece de un protocolo de toma de muestra, y muestreo.

Teniendo en cuenta dicha situación y para profundizar en el estudio de la calidad microbiológica de las canales de pollo y estimar la situación de este microorganismo, aplicamos la norma Covenin para *L. monocytogenes* desarrollada para alimentos en general, debido a que en Venezuela no existe una norma para el aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* en canales de pollos sacrificados. El aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* en las diferentes muestras se realizó siguiendo el protocolo que a continuación desarrollamos:

Enriquecimiento: Las muestras de canales y contenido intestinal (25 g respectivamente) y del agua (25 mL) se mezclaron con 225 mL del medio de

enriquecimiento para *Listeria* spp. se homogeneizó durante 30 seg y se incubó a 30°C durante 72 horas.

Aislamiento en medios selectivos: A partir del caldo de enriquecimiento de 24, 48 y 72 horas de incubación, se sembraron con asa estéril en la superficie de placas con agar Palcam (Himedia, India) y agar Oxford modificado (MOX, Oxoid, UK). Las placas se incubaron a 37 °C durante 48 horas.

Una vez finalizado el tiempo de incubación se observaron las colonias presuntivas de *Listeria monocytogenes*:

- Agar PALCAM: Las colonias de *Listeria monocytogenes* se observan de color verde oscuro con un halo negro con un hundimiento central y de un tamaño de 1,5 – 2 mm.
- Agar Oxford modificado (MOX): Las colonias de *Listeria monocytogenes* en este medio se observa verde parduzco con un halo negro, un hundimiento central y 2 mm de diámetro.

Identificación: A partir de los medios anteriores, se tomaron 5 o más colonias típicas con un asa estéril tocando el centro de la colonia y se traspasaron a placas de Agar Tripticasa Soya con Extracto de levadura (TSA, Himedia, India) en estría por agotamiento, para obtener colonias aisladas. Se utilizó una cepa de *Listeria monocytogenes* (ATCC 25923) como control positivo, cedida amablemente por el Centro de Referencia Bacteriología del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo.

Características Morfológicas y Culturales

A partir de cultivos de 24 horas en el medio TSA se realizaron tres pruebas preliminares para la identificación a nivel de género y especie:

Coloración de Gram: Las especies de *Listerias* son bacilos cortos, color violeta oscuro y pueden aparecer en forma cocoide.

Prueba de motilidad: Se utilizó el medio SIM inoculado por punción central, se incubó a temperatura ambiente durante 48 horas hasta 7 días, observando el crecimiento en forma de paraguas.

Prueba de hemólisis: Con la ayuda de un filamento, se sembró por punción (sin llegar hasta el fondo) un inóculo denso, en placas previamente de agar sangre (Oxoid, Ltd.), adicionado de un 5% de sangre de caballo desfibrinada y estéril, incubando a 35°C durante 48 horas. Se utilizaron controles positivos cepas tipo de *Listeria ivanovii*, *Listeria seeligeri* o *Listeria monocytogenes* y un control *Listeria innocua* (ATTC 33090) como control positivo, cedida amablemente por el Centro de Referencia Bacteriología del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo. La interpretación de las pruebas se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 5.- Características microbiológicas de las diferentes especies de *Listeria*.

Especies	<i>Beta hemólisis</i>	<i>Manitol</i>	<i>Ramnosa</i>	<i>Xilosa</i>
<i>L. monocytogenes</i>	+	-	+	-
<i>L. ivanovii</i>	+	-	-	+
<i>L. innocua</i>	-	-	Vs	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	Vs	+
<i>L. seeligeri</i>	+	-	-	+

Fuente: www.cfsan.fda.gov, Vs: Variabilidad de serotipos.

Al examinar las placas de agar sangre con luz brillante, *Listeria monocytogenes* y *Listeria seeligeri* producen una zona estrecha de beta hemólisis, evidenciándose por la aparición de zonas ligeramente claras alrededor de la punción, *Listeria ivanovii* produce zonas claras bien definidas alrededor de la punción y *Listeria innocua* no muestra zona de hemólisis.

Pruebas bioquímicas confirmatorias

Prueba de catalasa: a partir del medio tripticasa de soja, se seleccionó una colonia típica, colocándose en una lámina portaobjeto donde previamente se ha colocado una gota de solución salina, se mezcló y se agregó una gota de peróxido de hidrógeno al 3%. *Listeria monocytogenes* es catalasa positiva.

Fermentación de maltosa, ramnosa, xilosa, manitol, esculina y dextrosa: a partir de un cultivo de caldo Tripticasa de Soja, las colonias se inocularon en seis tubos de caldo púrpura con carbohidratos (0,5% p/v) de dextrosa, manitol, esculina, xilosa, maltosa, ramnosa y otro sin carbohidratos como control. Se dejó Incubar a 37 °C durante un periodo máximo de 7 días. La lectura de los resultados se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 6.- Características de *Listeria monocytogenes*

Prueba	Positivo	Negativo	<i>Listeria monocytogenes</i>
Coloración de Gram	Bacilos cortos Gram (+)	Ausencia de bacilos	+
Motilidad al fresco	Leve movimiento de rotación	Ausencia de movimiento	+
Motilidad Agar SIM, MTM o CTA	Crecimiento difuso a través de la línea de punción (tipo paraguas)	No característico	+
Beta hemólisis	Zona clara estrecha alrededor de la punción	Ausencia de zonas clara alrededor de la punción	+
Producción de Catalasa	Presencia de burbujas	Ausencias de burbujas	+
Fermentación de Maltosa	Amarillo	Púrpura	+
Fermentación de Ramnosa	Amarillo	Púrpura	+
Fermentación de Xilosa	Amarillo	Púrpura	-
Fermentación de Manitol	Amarillo	Púrpura	-
Fermentación de Esculina	Amarillo	Púrpura	+
Fermentación de Dextrosa	Amarillo	Púrpura	+

Fuente: Norma Venezolana Covenin 3718:2001.

Interpretación de resultados:

Pruebas bioquímicas convencional *Listeria monocytogenes*: *Bacilos cortos, Gram positivos, no esporulado, catalasa positiva, fermenta maltosa y ramnosa, pero no xilosa, exhibe una motilidad “rodante” en forma de “tumbos” o “volteretas” cuando se incubaba a 25 °C.*

Serológica: Presencia/Ausencia del microorganismo.

ANÁLISIS DE DATOS

Todo el diseño de este trabajo estuvo determinado por su objetivo principal, determinar la calidad microbiológica de la canal de pollos beneficiados siguiendo la normativa establecida por el Departamento de Higiene de los Alimentos, Programa de carnes de aves del Estado Zulia.

Las variables a estudiar eran nominales dicotómicas (“presencia de *Salmonella* spp.” y “presencia de *Listeria*” en las muestras) y cuantitativa discontinua (“nº de aerobios mesófilos por g o mL de muestra”), si bien esta última, se categorizó para el análisis en “muestra positiva o negativa a aerobios mesófilos”, según que la cantidad de bacterias fuese superior o inferior a 10^6 ufc/g o mL.

Para cada una de ellas, se determinó el número total de muestras positivas por muestreo realizado en cada matadero y punto del procesado, a fin de determinar el lugar idóneo de muestreo de las canales de pollo y la presencia de estos microorganismos en diversas fases del faenado (evisceración, pre-enfriamiento y enfriamiento).

Asimismo, y aunque no era el objetivo de esta Tesis y el tamaño de la muestra nos limitaba notablemente la precisión del resultado, se determinó la frecuencia total de muestras positivas a *Salmonella*, *Listeria* y aerobios mesófilos

por matadero y por fase del procesado, acompañando cada dato de su correspondiente intervalo de confianza (NC 95%).

A partir de estos datos descriptivos se plantearon diversas hipótesis sobre los posibles puntos críticos de contaminación de los canales. El diseño inicial de esta Tesis, fijado por la Norma Venezolana Covenin, limitaba nuestras posibilidades a la hora de verificar dichas hipótesis con un estudio estadístico. No obstante, se intentó comparar los resultados obtenidos para cada microorganismo *por matadero*, sumando todas las muestras recogidas en cada uno y *por fase de procesado*, agrupando las muestras de todas las plantas. En base al número de muestras incluidas en cada grupo de comparación ($n = 30$), sólo cuando la diferencia entre el porcentaje de muestras positivas en cada grupo fuese igual o superior al 45%, la probabilidad de que el estudio las detectase ($P < 0.05$) era próxima al 80%. Para una diferencia del 25% entre los grupos, la potencia del estudio descendía al 20%.

Para la comparación de las variables dicotómicas se realizó en primer lugar un contraste de homogeneidad mediante la prueba Chi cuadrado, para determinar si existían o no diferencias significativas entre las r poblaciones (los mataderos en un caso y las fases de procesado en otro) de las que se habían extraído las muestras. Si se rechazaba la hipótesis nula (nivel de significación aceptado 5%) se admitía que al menos una de las poblaciones era diferente con respecto a dicha variable. En tal caso, se procedía a realizar comparaciones múltiples, de 2 en 2 poblaciones, mediante la misma prueba, corrigiendo el nivel de significación obtenido en cada una de forma que el total fuese del 5%. La hipótesis nula fue siempre que ambas poblaciones eran iguales con respecto a la variable estudiada.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La sanidad animal constituye un factor determinante en la seguridad alimentaria. Ciertas enfermedades infecciosas y parasitarias (Brucelosis, Campilobacteriosis, Tuberculosis, Listeriosis, Salmonelosis, infecciones por *E. coli*, Equinococosis, Triquinosis) pueden suponer un elevado riesgo para el hombre. La transmisión de estas enfermedades puede producirse por distintas vías, siendo las enfermedades de transmisión alimentaria las que representan un problema de mayor magnitud, dado el elevado número de personas que pueden verse afectadas. Los últimos casos de enfermedades transmitidas por alimentos, han obligado a modificar la normativa en referencia al control de alimentos, desde su producción y comercialización hasta llegar al consumidor final (Molina y cols., 2010). La seguridad de los productos alimenticios es un aspecto básico y fundamental para proteger la salud pública, que se puede garantizar mediante la adopción de buenas prácticas de higiene y aplicación de procedimientos basados en el Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) (Wilhem y cols., 2011; Williams y Ebel, 2012).

La Normativa Europea (Reglamento 2073/2005 de la Comisión DO L 338 de 22.12. 2005, modificada por el Reglamento 1086/2001 de la Comisión DO L 281 de 27-10-2011) recoge que la calidad de los alimentos debe ser verificada en base a criterios microbiológicos. Es, por tanto, necesario fijar estos criterios y establecer un límite por encima del cual un producto alimenticio sea considerado inaceptable.

Existe un elevado grupo de microorganismos que se utilizan para evaluar la calidad microbiológica y vida útil de los alimentos, que se denominan *Microorganismos Indicadores*. Entre ellos, se encuentran bacterias aerobias y anaerobias, bacterias lácticas y esporuladas, y bacterias indicadoras de contaminación fecal e higiene (coliformes fecales y totales). Estos microorganismos indicadores habitualmente no responden a criterios de agrupación taxonómica, sino a sus características de crecimiento en función de la Temperatura, pH, atmósfera, etc. El principal objetivo de la utilización de microorganismos como indicadores es detectar defectos en el procesado o

conservación de los alimentos para consumo humano. Asimismo, en la evaluación de la seguridad microbiológica, se debe determinar la presencia de bacterias patógenas para el hombre, como *Salmonella* spp., *E. coli*, *Campylobacter* spp., *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus* spp., o *Clostridium* spp. (Rodríguez-Cavallini y cols., 2010; Voidarou y cols., 2011)

En este trabajo se ha realizado un estudio para evaluar la calidad y seguridad microbiológica de canales de pollo envasadas en cinco mataderos de pollos ubicados en los municipios San Francisco, Maracaibo y Mara, del estado de Zulia, Venezuela (plantas A, B, C, D y E). Además, se tomaron muestras en tres áreas de procesado: evisceración, pre-enfriamiento y enfriamiento, con la finalidad de determinar la eficacia del procesado de las canales, que posteriormente serán distribuidas a los diferentes puntos de comercio mayorista y minorista del Estado de Zulia.

El número de muestras y el diseño del muestreo han sido realizados en base a la bibliografía consultada (Ferrer y cols., 1995; Valera y cols., 1997, 2000; Pérez y cols., 2004). Se analizaron un total de 150 muestras (30 de contenido intestinal, 90 de canales y 30 de agua de los tanques). La toma de muestras se realizó tres días de la semana (lunes, miércoles y viernes), a primera hora de la mañana. Sobre las muestras recogidas, se aplicaron técnicas de laboratorio para el aislamiento e identificación de *Salmonella* spp. y aerobios mesófilos, basándonos en el método microbiológico convencional de la Comisión Venezolana de Normas Industriales (Covenin), *Norma Venezolana Covenin 2343-86 pollo beneficiado en Venezuela*. Asimismo, y atendiendo a trabajos publicados que denuncian los peligros del consumo de alimentos contaminados con *Listeria* spp., se determinó la presencia de este patógeno, siguiendo la metodología descrita en la *Norma Venezolana Covenin 3718:2001 Aislamiento e identificación de Listeria monocytogenes en alimentos*, para alimentos en general, debido a que su detección no se realiza de forma rutinaria en carne de pollo en Venezuela. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla (Tabla 7).

Tabla 7.- Resultados del análisis microbiológico en los cinco mataderos estudiados.

	Referencia	Muestra*	Presencia <i>Salmonella</i>	A. mesófilos (>10 ⁶)	Recuento A. mesófilos	<i>Listeria monocytogenes</i>
MATADERO A	1	CPC	NEG**	NEG	6,275x10 ⁴	POS
	2	CPC	NEG	NEG	6,305x10 ⁴	POS
	3	CPC	POS	POS	8,75x10 ⁷	NEG
	4	CPC	POS	POS	9,70x10 ⁷	NEG
	5	CPC	POS	NEG	3,843x10 ⁵	NEG
	6	CPC	POS	NEG	3,941x10 ⁵	NEG
	7	CCH	POS	NEG	7,0x10 ⁵	POS
	8	CCH	POS	NEG	6,0x10 ⁵	POS
	9	CCH	POS	POS	2,50x10 ⁶	NEG
	10	CCH	POS	POS	2,60x10 ⁴	NEG
	11	CCH	POS	NEG	3,9x10 ⁴	NEG
	12	CCH	POS	NEG	3,7x10 ³	NEG
	13	CEM	NEG	NEG	1,259x10 ⁵	NEG
	14	CEM	NEG	NEG	1,270x10 ⁵	NEG
	15	CEM	POS	NEG	4,825x10 ⁴	NEG
	16	CEM	POS	NEG	4,995x10 ³	NEG
	17	CEM	POS	NEG	3,445x10 ⁵	NEG
	18	CEM	POS	NEG	3,534x10 ⁵	NEG
	19	V	POS	POS	4,65x10 ⁶	POS
	20	V	POS	POS	4,50 x10 ⁷	POS
	21	V	POS	POS	1,25x10 ⁸	POS
	22	V	POS	POS	1,65x10 ⁷	POS
	23	V	POS	POS	1,666x10 ⁷	POS
	24	V	POS	POS	1,963x10 ⁶	POS
	25	APC	POS	POS	1,175x10 ⁶	NEG
	26	APC	POS	POS	1,56x10 ⁷	NEG
	27	APC	POS	POS	2,93x10 ⁶	NEG
	28	ACH	POS	NEG	5,35x10 ⁴	POS
	29	ACH	POS	NEG	2,957x10 ⁵	NEG
	30	ACH	POS	POS	5,025x10 ⁶	NEG

Tabla 7.- (Continuación). Resultados del análisis microbiológico en los cinco mataderos estudiados.

	Referencia	Muestra*	Presencia Salmonella	A. mesófilos (>106)	Recuento A. mesófilos	Listeria monocytogenes
MATADERO B	31	CPC	POS	NEG	6,5X10 ³	NEG
	32	CPC	POS	NEG	6,7X10 ²	NEG
	33	CPC	POS	NEG	1,909X10 ⁵	NEG
	34	CPC	POS	NEG	1,866X10 ⁴	NEG
	35	CPC	NEG	NEG	3,85X10 ⁴	NEG
	36	CPC	NEG	NEG	3,66X10 ⁵	NEG
	37	CCH	POS	NEG	9X10 ³	NEG
	38	CCH	POS	NEG	8X10 ²	NEG
	39	CCH	NEG	NEG	1,08X10 ⁴	NEG
	40	CCH	NEG	NEG	1,88X10 ³	NEG
	41	CCH	NEG	POS	4,60X10 ⁸	NEG
	42	CCH	NEG	POS	4,80X10 ⁹	NEG
	43	CEM	POS	NEG	1,125X10 ⁴	NEG
	44	CEM	POS	NEG	1,230X10 ³	NEG
	45	CEM	NEG	NEG	1,225X10 ⁴	NEG
	46	CEM	NEG	NEG	1,230X10 ³	NEG
	47	CEM	POS	NEG	4,7X10 ⁴	NEG
	48	CEM	POS	NEG	5,9X10 ⁴	NEG
	49	V	POS	POS	2,08X10 ⁸	NEG
	50	V	POS	POS	2,20X10 ⁸	NEG
	51	V	POS	POS	3,88X10 ⁶	POS
	52	V	POS	POS	3,08X10 ⁶	POS
	53	V	POS	POS	4,60X10 ⁸	POS
	54	V	POS	POS	4,80X10 ⁸	POS
	55	APC	NEG	NEG	3,2X10 ⁴	NEG
	56	APC	POS	POS	1,04X10 ⁷	NEG
	57	APC	POS	NEG	5,68X10 ⁴	NEG
	58	ACH	POS	NEG	9X10 ³	NEG
	59	ACH	POS	POS	1,413X10 ⁷	NEG
	60	ACH	POS	POS	3,15X10 ⁸	NEG

Tabla 7.- (Continuación). Resultados del análisis microbiológico en los cinco mataderos estudiados.

	Referencia	Muestra*	Presencia Salmonella	A. mesófilos (>106)	Recuento A. mesófilos	Listeria monocytogenes
MATADERO C	61	CPC	POS	NEG	1,56X10 ⁵	NEG
	62	CPC	POS	NEG	1,66X10 ⁴	NEG
	63	CPC	POS	POS	4,77X10 ⁷	NEG
	64	CPC	POS	POS	4,85X10 ⁹	NEG
	65	CPC	NEG	POS	2,242X10 ⁷	NEG
	66	CPC	NEG	POS	2,552X10 ⁶	NEG
	67	CCH	NEG	NEG	1,397X10 ⁵	NEG
	68	CCH	NEG	NEG	1,937X10 ⁵	NEG
	69	CCH	NEG	POS	4,217X10 ⁹	NEG
	70	CCH	NEG	POS	3,917X10 ⁹	NEG
	71	CCH	NEG	POS	3,209X10 ⁷	NEG
	72	CCH	NEG	POS	3,199X10 ⁸	NEG
	73	CEM	POS	NEG	3,2X10 ⁴	NEG
	74	CEM	POS	NEG	4,7X10 ³	NEG
	75	CEM	POS	POS	4,363X10 ⁹	NEG
	76	CEM	POS	POS	4,453X10 ⁹	NEG
	77	CEM	POS	POS	2,212X10 ⁷	NEG
	78	CEM	POS	POS	2,816X10 ⁷	NEG
	79	V	POS	NEG	1,283X10 ⁵	POS
	80	V	POS	NEG	1,883X10 ⁴	POS
	81	V	POS	POS	3,843X10 ⁷	POS
	82	V	POS	POS	3,887X10 ⁷	POS
	83	V	POS	NEG	3,64X10 ⁵	POS
	84	V	POS	NEG	3,98X10 ⁴	POS
	85	APC	POS	POS	1,373X10 ⁷	NEG
	86	APC	NEG	POS	4,038X10 ⁷	NEG
	87	APC	NEG	NEG	2,104X10 ⁵	NEG
	88	ACH	NEG	POS	1,592X10 ⁷	NEG
	89	ACH	NEG	NEG	2,543X10 ⁵	POS
	90	ACH	NEG	NEG	1,909X10 ⁵	NEG

Tabla 7.- (Continuación). Resultados del análisis microbiológico en los cinco mataderos estudiados.

	Referencia	Muestra*	Presencia Salmonella	A. mesófilos (>106)	Recuento A. mesófilos	Listeria monocytogenes
MATADERO D	91	CPC	POS	POS	4,680X10 ⁷	NEG
	92	CPC	POS	POS	4,860X10 ⁷	NEG
	93	CPC	POS	POS	3,046X10 ⁹	NEG
	94	CPC	POS	POS	3,944X10 ⁸	NEG
	95	CPC	POS	POS	3,103X10 ⁹	POS
	96	CPC	POS	POS	3,376X10 ⁸	POS
	97	CCH	POS	POS	3,615X10 ⁷	NEG
	98	CCH	POS	POS	3,976X10 ⁸	NEG
	99	CCH	NEG	NEG	2,706X10 ⁵	POS
	100	CCH	NEG	NEG	2,766X10 ⁴	POS
	101	CCH	POS	NEG	2,982X10 ⁵	POS
	102	CCH	POS	NEG	2,909X10 ⁴	POS
	103	CEM	POS	POS	4,420X10 ⁷	NEG
	104	CEM	POS	POS	4,827X10 ⁷	NEG
	105	CEM	NEG	NEG	3,12X10 ⁵	NEG
	106	CEM	NEG	NEG	3,22X10 ⁵	NEG
	107	CEM	NEG	POS	3,298X10 ⁷	POS
	108	CEM	NEG	POS	3,928X10 ⁷	POS
	109	V	POS	NEG	3,50X10 ⁵	POS
	110	V	POS	NEG	3,25X10 ⁵	POS
111	V	POS	POS	2,77X10 ⁷	NEG	
112	V	POS	POS	2,18X10 ⁷	NEG	
113	V	POS	NEG	2,99X10 ⁵	POS	
114	V	POS	NEG	2,35X10 ⁵	POS	
115	APC	NEG	NEG	3,826X10 ⁵	NEG	
116	APC	POS	NEG	3,144X10 ⁵	NEG	
117	APC	POS	NEG	3,283X10 ⁵	POS	
118	ACH	POS	POS	3,225X10 ⁶	NEG	
119	ACH	POS	POS	2,99X10 ⁷	NEG	
120	ACH	POS	POS	3,404X10 ⁷	POS	

Tabla 7.- (Continuación). Resultados del análisis microbiológico en los cinco mataderos estudiados.

	Referencia	Muestra*	Presencia Salmonella	A. mesófilos (>106)	Recuento A. mesófilos	Listeria monocytogenes
MATADERO E	121	CPC	NEG	NEG	1,175X10 ⁴	POS
	122	CPC	NEG	NEG	1,870X10 ⁴	POS
	123	CPC	NEG	POS	2,975X10 ⁶	POS
	124	CPC	NEG	POS	2,870X10 ⁷	POS
	125	CPC	NEG	POS	3,6X10 ⁶	NEG
	126	CPC	NEG	POS	3,9X10 ⁶	NEG
	127	CCH	NEG	POS	2,15X10 ⁸	POS
	128	CCH	NEG	POS	2,56X10 ⁹	POS
	129	CCH	POS	NEG	3,436X10 ⁵	POS
	130	CCH	POS	NEG	3,036X10 ⁵	POS
	131	CCH	NEG	POS	2,96X10 ⁷	NEG
	132	CCH	NEG	POS	2,06X10 ⁸	NEG
	133	CEM	NEG	POS	3,979X10 ⁶	POS
	134	CEM	NEG	POS	3,775X10 ⁶	POS
	135	CEM	POS	NEG	2,975X10 ⁴	NEG
	136	CEM	POS	NEG	2,070X10 ⁴	NEG
	137	CEM	NEG	POS	3,10X10 ⁶	POS
	138	CEM	NEG	POS	3,98X10 ⁶	POS
	139	V	POS	NEG	3,33X10 ⁵	NEG
	140	V	POS	NEG	3,98X10 ⁵	NEG
	141	V	POS	POS	3,82X10 ⁷	NEG
	142	V	POS	POS	3,92X10 ⁷	NEG
	143	V	POS	NEG	4,58X10 ⁵	POS
	144	V	POS	NEG	4,80X10 ⁵	POS
	145	APC	POS	POS	1,275X10 ⁶	POS
	146	APC	POS	POS	2,8925X10 ⁷	POS
	147	APC	POS	NEG	1,275X10 ⁴	POS
	148	ACH	NEG	NEG	1,85X10 ⁴	NEG
	149	ACH	NEG	NEG	3,35X10 ⁴	POS
	150	ACH	NEG	NEG	3,20X10 ⁴	NEG

*Nomenclatura de identificación de las canales/agua/áreas en el estudio. CPC: canal pre-enfriamiento; CCH: canal del enfriamiento; CEM: canal de envasado; APC: agua del pre-enfriamiento; ACH: agua del enfriamiento; V: contenido intestinal.

** NEG: Resultado negativo, POS. Resultado Positivo.

La detección (presencia) de *Salmonella* se ha basado en los resultados de la triada de medios de cultivo Agar Lisina Hierro (LIA), agar Kliguer hierro y agar Motilidad Indol Ornitina (MIO), que permiten una adecuada identificación bioquímica a nivel de género (Astorga y col., 2002), tal y como se describe en el capítulo de materiales y métodos (tabla 4). En la siguiente tabla, se resumen los resultados obtenidos en el total de muestras analizadas de los cinco mataderos. Como se puede observar, hemos detectado la presencia de *Salmonella* spp. en 100 muestras (66,6% IC_{95%} 59,1-74,2%). Todas las plantas de sacrificio resultaron positivas a este microorganismo, destacando la diferencia encontrada entre el número de muestras positivas de la planta A (86,6% IC_{95%} 74,5-98,8%) y la planta E (43,3% IC_{95%} 25,6-61,1%), respectivamente los mataderos con menor y mayor nivel tecnológico.

Tabla 8.- Presencia de *Salmonella* spp. en las diferentes plantas estudiadas.

Planta	Contenido intestinal	Canal pre enfriamiento	Canal enfriamiento	Canal envasado	Agua pre enfriamiento	Agua enfriamiento	Total %	IC 95%
A	6/6	4/6	6/6	4/6	3/3	3/3	26/30 (86,6%)	74,5-98,8
B	6/6	4/6	2/6	4/6	2/3	3/3	21/30 (70,0%)	53,6-86,4
C	6/6	4/6	0/6	6/6	1/3	0/3	17/30 (56,6%)	38,9-74,4
D	6/6	6/6	4/6	2/6	2/3	3/3	23/30 (76,6%)	61,5-91,8
E	6/6	0/6	2/6	2/6	3/3	0/3	13/30 (43,3%)	25,6-61,1
Total %	30/30 100%	18/30 60,0%	14/30 46,6%	18/30 60,0%	11/15 73,3%	9/15 60,0%	100/150 (66,6%)	59,1-74,2

Cumpliendo los objetivos propuestos, analizamos primero los resultados obtenidos en canales envasadas, por ser el producto final. De las treinta canales de pollo envasadas analizadas, se detectó la presencia de *Salmonella* spp. en 18 (60% IC_{95%} 42,47-77,53%). Se obtuvieron valores máximos en canales envasadas en la planta C (6/6), mientras que para las plantas A y B se detectó la presencia de esta bacteria en cuatro de seis canales examinadas. Los niveles más bajos se obtuvieron en las plantas D y E (2/6 respectivamente). La obtención de resultados positivos a la presencia de *Salmonella* spp. en las canales obliga, según la norma

venezolana, a la eliminación del lote completo, lo cual lleva a importantes pérdidas económicas para los productores y el sector de la industria avícola.

Otros estudios realizados en Venezuela han detectado una prevalencia de *Salmonella* spp. en canales envasadas que varían entre el 20 y el 40 por ciento (Infante y cols., 1994; Pérez y col., 2004; Molina y cols., 2010), resultados sensiblemente diferentes a los encontrados en nuestro estudio. Sin embargo, en trabajos publicados sobre detección de *Salmonella* spp. en otras piezas derivadas del pollo, se muestran valores más parecidos a los obtenidos en nuestro estudio, que alcanzan el 70 por ciento (Morillo y cols., 1996). En estos casos, la contaminación se relacionó con un inadecuado manejo en las salas de despiece y comercios (Reuben y cols., 2003; Calvo y cols., 2011).

A pesar de los esfuerzos realizados para su control, la presencia de *Salmonella* spp. en los alimentos sigue siendo una de las principales preocupaciones de las autoridades sanitarias a nivel mundial. En la Unión Europea, según datos de la EFSA (2010) en el 15,7% de las muestras de canales analizadas en matadero, se aislaron *Salmonellas*. Este trabajo es el resultado de un estudio global llevado a cabo en 22 Estados miembros, en 17 Estados identificaron los tipos *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, responsables de la mayoría de infecciones en humanos. Igualmente, en países latinoamericanos, como Chile, se ha determinado la presencia de *Salmonella* en un 12,1% en productos cárnicos de ave (Alexandre y cols., 2000).

Si analizamos los resultados de la detección de *Salmonella* spp. en otras fases del procesado, comprobamos que las muestras de contenido intestinal tomadas en la fase de evisceración, fueron positivas (6/6) en todas las plantas. Estos datos sugieren que éste es un punto crítico de control dentro del procesado. La presencia de *Salmonella* spp. en el intestino de las aves puede ser un factor de riesgo mucho más importante en el caso de rotura del paquete intestinal, provocando la contaminación interna y externa de las canales, así como de los

equipos (León y cols., 1996). De hecho, el área de evisceración ha sido definida por otros autores como un factor de riesgo en las plantas procesadoras de canales de pollo (Valera y cols., 2000; Reuben y cols., 2003; Wilhelm y cols., 2001; Calvo y cols., 2011).

Las especies del género *Salmonella* son habitantes normales del intestino de las aves, en las que no producen sintomatología evidente (Rodríguez y cols., 2010), y su detección en el matadero sugiere la alta prevalencia de animales portadores que debe existir en las granjas de origen (Pérez y cols., 2004, Wilhelm y cols., 2011). Actualmente, en Venezuela no existen datos publicados sobre la prevalencia de la salmonelosis en granjas (Mata y cols., 2008), no obstante, en países con los que Venezuela mantiene relaciones comerciales en el sector avícola, como China, Colombia, Rusia y Vietnam, la prevalencia alcanza valores que oscilan entre el 26,7% obtenido en Colombia y el 52,2% detectado en China (FENAVI, 2012) (<http://www.elsitioavicola.com/articulos/2131/bacterias-en-el-pollo-procesado>).

Existen numerosos estudios que señalan que el grado de contaminación de los productos cárnicos tiene una relación directa con la frecuencia de animales portadores que son sacrificados en el matadero (Arsenault y col., 2007; Mainali y cols., 2009; Marin y cols., 2011). Por tanto, resulta prioritario llevar a cabo estudios epidemiológicos que permitan determinar la prevalencia y los factores de riesgo asociados a la presencia de *Salmonella* spp. en las explotaciones de origen, para reducir el nivel de contaminación en los mataderos (Davies y cols., 2001; Zhang y cols., 2011). Los estudios publicados recientemente demuestran que existen varios factores de riesgo para la presencia de *Salmonella* en la producción de aves a nivel de granja, entre ellos los más importantes son los niveles de contaminación de las naves, el estado sanitario de los pollitos de un día, el agua y alimento y la presencia de vectores (Heyndrickx y cols., 2002; Arsenault y cols., 2007; Bohaychuk y cols., 2009; Le Bouquin y cols., 2010; Sampers y cols., 2010; Marin y cols., 2011).

Así mismo, las condiciones del transporte y el tiempo de espera en las plantas también pueden aumentar el riesgo de contaminación de *Salmonella* antes del sacrificio (Arsenault y cols., 2007; Mainali y cols., 2009). De hecho, existen estudios que observan un incremento en la proporción de animales positivos desde la salida de la explotación de origen hasta el matadero. Por una parte, el estrés favorece la eliminación fecal de *Salmonella*, facilitando la contaminación de los camiones durante el transporte y de los mataderos, dando lugar a contaminaciones cruzadas, de ahí la importancia en la programación de la salida de los animales al matadero. Arsenault y cols. (2007) determinaron que la presencia de contenido digestivo en el intestino de las aves (yeyuno) era un factor de riesgo para la contaminación por *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. durante el transporte y la llegada al matadero. Nuestras observaciones “in situ” hacen pensar que en los mataderos estudiados no se respetan los tiempos de ayuno de las aves en el momento de la salida de los animales al matadero. Por ello, resulta fundamental establecer programas de formación a los responsables de las explotaciones avícolas, para que se respeten los tiempos de ayuno de 6 a 8 horas previas al traslado al matadero, evitando así la contaminación cruzada durante el proceso de sacrificio. También resulta fundamental el establecimiento de buenas prácticas durante el transporte de los animales.

Uno de los principales objetivos que se persiguen al sumergir las canales en los tanques de pre-enfriamiento y enfriamiento es reducir la temperatura de las canales y disminuir la contaminación microbiana. Muchos autores coinciden en definir el tanque de enfriamiento como un punto crítico de control de la HACCP (Voiradou y cols., 2012). Los trabajos de Valera y col., (1997) encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el momento de la salida de cada tanque (pre-enfriamiento y enfriamiento), con respecto a la presencia de *Salmonella* spp., concluyendo que el enfriamiento y la cloración reducen efectivamente los niveles bacterianos en las canales de pollo, aunque en su estudio comprueban que no se consigue eliminar la presencia de *Salmonella* en esta fase del procesado. De hecho, la contaminación previa de las canales, el desinfectante utilizado, el tiempo

de inmersión pueden influir en los niveles de reducción (Pérez y cols., 2004; Cervantes, 2008; Molero y cols., 2010).

Aunque el tamaño de nuestra muestra limitó la potencia estadística del estudio para comparar los resultados de las canales en función de la fase del procesado, observamos que sólo en el matadero D se producía una disminución progresiva en el número de canales positivas a *Salmonella* spp. desde el pre-enfriamiento al envasado. En el caso de los mataderos B y C, se observó que tras disminuir las muestras positivas al pasar por los tanques de pre-enfriamiento y enfriamiento, aumentaba la presencia de *Salmonella* spp. Estos resultados sugieren que a lo largo del procesado se puede producir una contaminación cruzada, bien a partir de los equipos o bien a partir del manipulador (Reuben y cols., 2003; Muth y cols., 2009; Sampers y cols., 2010).

Cuando se analiza el agua de los tanques de pre-enfriamiento y enfriamiento, se comprueba que el número de muestras positivas es similar (73,3% IC_{95%} 51-95,7% y 60% IC_{95%} 35,2-84,7% respectivamente). Estos resultados llaman la atención, pues en la fase de enfriamiento (*Chiller*) las canales deben ser sumergidas durante un periodo de 45 minutos en agua a una temperatura de 2-4 °C, adicionada de hipoclorito sódico, a razón de 50 partes por millón (Valera y cols., 2000).

Estudios realizados por la EFSA (Agencia Europea de Seguridad Alimentaria) en el 2011, determinaron que el volumen de sacrificio y los protocolos de limpieza y desinfección son puntos críticos de control para reducir la contaminación de *Salmonella* en las canales de pollo durante el procesado. En nuestro estudio se intentó determinar si existía relación entre la presencia de *Salmonella* spp. en las muestras y el día de la semana, teniendo en cuenta que la limpieza más exhaustiva se realizaba los sábados, por una empresa especializada dedicada a la limpieza y desinfección de las plantas sacrificadoras. Se

muestrearon los lunes, miércoles y viernes de una misma semana, pero no se encontraron diferencias significativas entre los días de muestreo.

Finalmente, se comparó la frecuencia de aislamiento de *Salmonella* spp. en cada una de las plantas sacrificadoras, considerando conjuntamente todas las muestras analizadas por planta. El análisis microbiológico demostró la presencia de *Salmonella* spp. en los cinco mataderos, si bien el porcentaje de muestras positivas sólo fue significativamente diferente en el caso de la planta A con respecto a las plantas C y D, y en el caso de la planta D con respecto a la planta E. En trabajos previos, se ha sugerido que estas diferencias pueden ser debidas a al volumen de sacrificio, prácticas de los manipuladores del alimento o limpieza de equipos (Heyndrickx y cols., 2002). Estos resultados ponen, pues, de manifiesto la necesidad de realizar un estudio epidemiológico de factores de riesgo, con una mayor presión de muestreo en las diferentes fases de procesado, que nos permita determinar los puntos críticos de control.

En este trabajo, no se han realizado estudios de serotipificación y fagotipia, consideradas como marcadores epidemiológicos para determinar la relación entre los aislamientos (Astorga y cols., 2002), que nos permitirían conocer la verdadera implicación zoonótica de los aislamientos obtenidos en el matadero, ya que la *Norma Venezolana Covenin* no recoge la identificación o diferenciación entre los distintos serovares, tal y como se recoge en la normativa europea (Reglamento 1086/2001 de la Comisión DO L 281 de 27-10-2011). Como se ha indicado, no existen datos publicados sobre la situación de las granjas avícolas de Venezuela en relación con *Salmonella*, aunque los trabajos publicados demuestran que los serovares aislados en personas más comunes en el país son *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* y *Typhimurium* (Galanis y cols., 2006; Hendriksen y cols., 2009).

La *Norma Venezolana Covenin 2342-86 para pollo beneficiado*, establece que las canales de pollo son aptas para el consumo cuando se demuestra

ausencia de *Salmonella* y un recuento de aerobios mesófilos por debajo de 10^6 ufc/g. El recuento de microorganismos aerobios mesófilos incluye a todas las bacterias, hongos y levaduras que en aerobiosis muestran capacidad para formar colonias visibles, a temperatura de 30 °C. La mayoría de los alimentos industrializados y/o listos para el consumo (excepto por ejemplo los productos fermentados) deben ser considerados como inaceptables cuando presentan un recuento elevado, aún cuando estos microorganismos no sean conocidos como patógenos y no hayan alterado de forma apreciable los caracteres organolépticos del alimento. Este recuento es utilizado como indicador de la vida útil de los productos (Rodríguez-Cavallini y cols., 2010).

Siguiendo los objetivos marcados en nuestro estudio, se determinó la calidad microbiológica en función del recuento de aerobios mesófilos, considerando un resultado positivo cuando este recuento fue superior a 10^6 ufc/g de muestras o 10^6 ufc/mL de agua (*Norma Venezolana Covenin 2343-86 para pollo beneficiado*). La frecuencia máxima de muestras positivas por matadero fue del 56,6% (planta C) y la mínima del 43,3% (planta B) ($P > 0.05$).

Tabla 9.- Presencia de Aerobios mesófilos en las diferentes plantas estudiadas.

Planta	Contenido intestinal	Canal pre enfriamiento	Canal enfriamiento	Canal envasado	Agua pre enfriamiento	Agua enfriamiento	Total	IC _{95%}
A	6/6	2/6	2/6	0/6	3/3	1/3	14/30 (46,6%)	28,8-64,5
B	6/6	2/6	2/6	0/6	1/3	2/3	13/30 (43,3%)	25,6-61,1
C	2/6	4/6	4/6	4/6	2/3	1/3	17/30 (56,6%)	38,9-74,4
D	2/6	3/6	2/6	4/6	0/3	3/3	14/30 (46,6%)	28,8-64,5
E	2/6	4/6	4/6	4/6	2/3	0/3	16/30 (53,3%)	35,5-71,2
Total %	18/30 (60,0%)	15/30 (50,0%)	14/30 (46,6%)	12/30 (40,0%)	8/15 (53,3%)	7/15 (46,6%)	74/150 (49,3%)	41,3-57,3

Cuando se analizan los resultados en el producto final (canal envasada), se comprueba que el número de canales analizadas que superan los límites tolerables para aerobios mesófilos es del 40 por ciento (IC_{95%} 22,47-57,53%).

Hemos de destacar, sin embargo, que en dos de las cinco plantas (A y B), el recuento de mesófilos en todas las canales envasadas fue inferior al umbral de positividad. En estos mataderos, se apreció además una disminución progresiva del número de muestras positivas entre la evisceración (6/6) y las fase de pre-enfriamiento y enfriamiento (2/6 en ambas). Estos resultados coinciden con los hallados por Voidarou y cols. (2011) y Zhang y cols., (2011), que demuestran la presencia de mayores recuentos de aerobios mesófilos en productos cárnicos de ave elaborados de manera artesanal sobre la producción industrial, sugiriendo que el procesado de las canales a nivel industrial permite asegurar una mayor calidad higiénica y microbiológica del producto final.

Sin embargo, en las plantas C, D y E la contaminación de las canales parece ir en aumento desde la evisceración (2/6) al envasado (4/6); hecho que podría estar relacionado tanto con el tamaño de muestra recogido (demasiado pequeño para realizar comparaciones significativas) como con posibles contaminaciones por manipulación o fallo de la maquinaria.

Al comparar los resultados del recuento en las canales y el agua del tanque de pre-enfriamiento y enfriamiento, se comprueba que, en general, la contaminación en ambos tipo de muestra es muy similar y considerablemente mayor en la fase de pre-enfriamiento (50% de las canales y 53,3% de las muestras de agua), existiendo de nuevo una disminución de la contaminación tras la fase de enfriamiento (46,6% de las canales y de las muestras de agua). No obstante, el número de aerobios mesófilos presentes en las muestras es mayor a lo permitido por la norma, sugiriendo un posible fallo de las temperaturas medias de los tanques de pre-enfriamiento y enfriamiento en estas plantas, que permite el crecimiento y multiplicación de estas bacterias (Pérez y cols., 2004), así como la existencia de contaminación cruzada entre las canales y el agua.

En relación al día de recogida de la muestra, al igual que sucediera en el estudio de *Salmonella* spp., no se observaron diferencias significativas.

Otro de los patógenos considerados emergentes para valorar la seguridad microbiológica de los alimentos es la presencia de *Listeria monocytogenes*. Actualmente la presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos de origen animal significa una amenaza para la salud pública, considerándose un patógeno emergente oportunista. Dicho microorganismo se encuentra en una gran variedad de alimentos frescos, semi-procesados y procesados, de origen vegetal o animal como hortalizas, leche, quesos, carne de vaca, cerdo, aves, pescado, embutidos ahumados y fermentados, mariscos crudos y pescados ahumados entre otros (Marzocca y cols., 2004; Baquero y cols., 2006; Ramírez y cols., 2009; Ramírez y cols., 2010).

Atendiendo a las recomendaciones internacionales de realizar una monitorización en las empresas productoras de alimentos listos para el consumo, que puedan representar un riesgo de contaminación de *Listeria monocytogenes* (Sepúlveda y cols., 2002; Rodríguez, 2003; Pérez y cols., 2004; Pérez- Rubiano y cols., 2008; López y cols., 2008; Voidarou y cols., 2011; Zhang y cols., 2011), se planteó en este trabajo realizar un estudio para determinar la presencia de *Listeria* spp. en los cinco mataderos.

La normativa Europea (Reglamento (CE) 2073/2005 de la comisión de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios) recomienda que la concentración de *Listeria monocytogenes* en los alimentos en los que puede desarrollarse el microorganismo, se mantenga por debajo de $\leq 10^2$ ufc/g (Norma EN/ISO 11290-2 *Alimentos listos para el consumo que pueden favorecer el desarrollo de L. monocytogenes, que no sean los destinados a los lactantes ni para usos médicos especiales*). En este trabajo, hemos aplicado la metodología descrita en la *Norma Venezolana Covenin 3718:2001 Aislamiento e identificación de Listeria monocytogenes en alimentos*. Esta técnica, se fundamenta en la detección de *L. monocytogenes* en alimentos en general. En esta normativa no se indican los

límites de Unidades Formadoras de Colonias, el tamaño de la muestra o el protocolo de muestreo, sólo se especifica que el resultado debe interpretarse como ausencia/presencia, según las pruebas bioquímicas convencionales, según se recoge en el apartado de material y métodos.

Los resultados de nuestro estudio muestran una gran variación en la frecuencia de aislamiento de *L. monocytogenes* entre los cinco mataderos, con diferencias claramente significativas entre las plantas E (60% IC_{95%} 42,5-77,5) y B (13,3% IC_{95%} 1,2-25,5%). Otros trabajos también han demostrado que la tasa de contaminación puede variar entre mataderos (Miettinen y cols., 2001), y ponen en evidencia el alto grado de contaminación en derivados cárnicos de pollos.

Tabla 10.- Presencia de *Listeria monocytogenes* en las diferentes plantas estudiadas.

Planta	Contenido intestinal	Canal pre enfriamiento	Canal enfriamiento	Canal envasado	Agua pre enfriamiento	Agua enfriamiento	Total	IC _{95%}
A	6/6	2/6	2/6	0/6	0/3	1/3	11/30 (36,6%)	19,4- 53,9
B	4/6	0/6	0/6	0/6	0/3	0/3	4/30 (13,3%)	1,2- 25,5
C	6/6	0/6	0/6	0/6	0/3	1/3	7/30 (23,3%)	8,2- 38,5
D	4/6	2/6	4/6	2/6	1/3	1/3	14/30 (46,6%)	28,8- 64,5
E	2/6	4/6	4/6	4/6	3/3	1/3	18/30 (60,0%)	42,5- 77,5
Total %	22/30 (73,3%)	8/30 (26,6%)	10/30 (33,3%)	6/30 (20,0%)	4/15 (26,6%)	4/15 (26,6%)	54/150 (36,0%)	28,3- 43,7

La frecuencia de canales envasadas contaminadas con *Listeria* en nuestro estudio fue del 20 por ciento (IC_{95%} 5,69-34,31%). En estudios similares realizados en otros países, se han obtenido resultados muy variables, que han oscilado entre el 15% y el 43,3% (Uyttendaele y cols., 1997; Pelliser y cols., 2001; Karoley y cols., 2005; Nierop y cols., 2005; Pérez-Rubiano y cols., 2008; Sakaridis y cols., 2011; López y cols., 2012). Autores como Sakaridis y cols. (2011) aislaron *Listeria* spp. en el 99% de las canales de pollo sacrificadas en distintos mataderos de Grecia, con una frecuencia de aislamiento de *L. monocytogenes* del 38 por ciento, valores superiores a los obtenidos en este trabajo.

Los estudios realizados por Trepai, en 2002, detectaron valores que oscilaron entre el 23 y el 60 por ciento de canales de aves contaminadas con *Listeria* en Estados Unidos y en Inglaterra. En Helsinki (Finlandia), también se ha demostrado la presencia de *Listeria monocytogenes* en las canales de pollos en establecimientos de venta al por menor, con frecuencias del 60 por ciento (Miettinen y cols., 2001). En alimentos precocidos de origen aviar *Listeria* spp., se encontró en el 35,5% de las muestras, con frecuencias de aislamiento de *L. monocytogenes* del 15,5%. La incidencia de *Listeria* spp. fue mucho mayor en productos no envasados frente a los envasados (41,7% y 11,1%, respectivamente) (Rijpens y cols., 1997).

Son escasos los trabajos de investigación para la detección de los distintos serovares de *Listeria* en canales de pollo en Venezuela, sin embargo existen antecedentes en otros alimentos (quesos no pasteurizados, verduras y pescado, entre otros). Así, se han detectado los serovares *L. weshimeri*, *L. grayi*, *L. innocua* y *L. monocytogenes* en leche y derivados lácteos (Rodríguez y cols., 2009; Ramírez y cols., 2010). También se ha detectado en otros productos, como tomates (25% *L. monocytogenes* y 16,7% *L. ivanovii*), cilantro (36,5% *L. monocytogenes*; 33,3% *L. ivanovii* y 7,3% *L. seeliger*). Por otro lado, se han aislado cepas de *L. monocytogenes* en carne de atún rojo (fresco y salado) tomados directamente de sitios de venta en Cumaná, estado Sucre (Martínez y cols., 2004).

Cuando se analizan los datos en función del área de procesado, se comprueba, que en todos los mataderos excepto el E, el mayor número de muestras positivas aparece en el área de evisceración (6/6 ó 4/6), debido posiblemente a la presencia habitual de *Listeria* spp. en la flora normal del tracto gastrointestinal de las aves (Pérez y cols., 2008). En base a estos hallazgos, que coinciden con los obtenidos en estudios previos (Valera y cols., 1997; Trepai, 2002; Martínez y cols. 2004), y a la posibilidad de que exista en esta fase una contaminación directa de la canal por ruptura del paquete intestinal, consideramos

la fase de evisceración como un posible punto crítico de control en las plantas estudiadas. Por lo tanto, la monitorización de las granjas de origen para conseguir una reducción de los niveles de contaminación de los animales que llegan a matadero, se convierte en un objetivo prioritario para reducir la contaminación de las canales.

Actualmente, no existe un programa de control de listeriosis en producción primaria, aunque sea considerado un patógeno emergente y un riesgo a la salud pública de los consumidores de alimentos de origen animal (Rubiano y cols., 2008; Molero y cols., 2010; Martínez y cols, 2004) (figura 12).

Los resultados obtenidos en las canales de pre-enfriamiento y enfriamiento mostraron, en general, un descenso significativo del número de muestras positivas tras la entrada en el tanque de pre-enfriamiento (26,6% IC_{95%} 10,84-42,5%), pero no así tras someterse al enfriamiento (33,3% IC_{95%} 16,46-50,20%). El porcentaje de muestras contaminadas en este último fue siempre igual, o incluso superior, al del tanque de pre-enfriamiento. En comparación con estos datos, destacan los resultados de la planta E, en la que parecía existir un aumento de la contaminación de la canal tras la evisceración; contaminación que posteriormente no disminuye en la fase de enfriamiento. Estos datos podrían deberse al reducido tamaño de las muestras obtenidas en cada fase, si bien, en cualquier caso demuestran que durante el procesado no se elimina este patógeno. Estudios previos han sugerido que el agua y hielo empleados en los tanques suponen importantes factores de riesgo para el mantenimiento y difusión de *Listeria* spp. (Valera y cols., 1997). Los análisis realizados en nuestro estudio, parecen corroborar esta hipótesis, por cuanto sólo en los mataderos que presentaron contaminación en ambos tanques (plantas D y E) no lograron eliminar las listerias de la canal de pollo envasada. Por ello, se debe recomendar que el agua sea potable, se cambie de forma periódica y se controle constantemente su temperatura para evitar la contaminación cruzada que compromete la calidad microbiológica del producto y su vida útil.

En otros trabajos, se ha comprobado que las especies del género *Listeria* pueden contaminar las plantas procesadoras de alimentos por diferentes vías (animales portadores, operadores, material contaminado) y puede formar y adherirse a las superficies de trabajo (incluyendo acero inoxidable, vidrio, caucho), formando biopelículas y sobrevivir a temperaturas de entre -0,4 °C hasta 45 °C, durante largos periodos de tiempo (Martínez y cols., 2004; Marzocca y cols., 2004; Pérez- Rubiano y cols., 2008). Los estudios de Miettinen y cols. (2001) muestran que los refrigeradores de aire, máquinas de pelar y cinta transportadora en la máquina de embalar, pueden ser también fuente de contaminación de *Listeria*. Por lo tanto, y teniendo en cuenta estos resultados en conjunto, se recomienda ser más exigente en el cumplimiento de las buenas prácticas en todos los procesos de faenado, con una monitorización sistemática, adaptada al volumen de sacrificio, que permita por una parte definir los puntos críticos y evitar así la contaminación con patógeno emergente y un riesgo a la salud pública de los consumidores de alimentos tanto de origen animal (Martínez y cols., 2004; Rubiano y cols., 2008; Molero y cols., 2010).

Finalmente, se compararon los resultados de contaminación de las canales envasadas (producto final) en los cinco mataderos (Tabla 11). Tal y como se observa, en los cinco mataderos existía contaminación de las canales por alguno de los microorganismos estudiados.

Tabla 11.- Resultados microbiológicos de las canales envasadas analizadas.

Canales envasadas	MATADEROS				
	A	B	C	D	E
Negativas a los 3 microorganismos	2/6	2/6	-	2/6	-
(+) sólo a <i>Salmonella</i>	4/6	4/6	6/6	2/6	2/6
(+) sólo a Aerobios mesófilos	-	-	4/6	4/6	4/6
(+) sólo a <i>Listeria</i>	-	-	-	2/6	4/6
(+) a <i>Salmonella</i> y Aerobios mesófilos	-	-	4/6	2/6	-
(+) a <i>Salmonella</i> y <i>Listeria</i>	-	-	-	-	-
(+) a <i>Listeria</i> y Aerobios mesófilos	-	-	-	2/6	4/6

Salmonella fue el único microorganismo presente en todas las plantas, bien de forma exclusiva (plantas A y B) o acompañada de un alto recuento de aerobios mesófilos (plantas C y D). Asimismo, llamó la atención que en ningún caso se detectó la presencia de *Salmonella* spp. y *Listeria* en las mismas canales, mientras que sí se hallaron muestras contaminadas simultáneamente por *Listeria* y aerobios mesófilos. Existen estudios que sugieren que, a nivel de los alimentos, puede existir una competencia entre *Salmonella* y *Listeria* por el espacio y los nutrientes (Arias y col., 2000; Morillo y col., 2007).

En este trabajo se pone en evidencia el alto nivel de contaminación de las canales envasadas procedentes de mataderos de Venezuela, en relación a la presencia de *Salmonella* spp., recuento de aerobios mesófilos y presencia de *Listeria monocytogenes*. Entre las razones que pueden explicar estos resultados, y según se ha puesto de manifiesto a lo largo del trabajo, el estado sanitario de los animales que llegan al matadero y las condiciones de procesado constituyen puntos críticos de control, para conseguir mejorar la calidad del producto final.

Por ello, debemos recomendar, en primer lugar, la aplicación de planes de vigilancia y control de *Salmonella* y *Listeria* en las granjas de origen, que suministran las aves al matadero, que permitan conocer la situación epidemiológica, los factores de riesgo asociados a la presencia de estos patógenos y poder adoptar adecuadas medidas de lucha, para que los animales lleguen al matadero con un estado sanitario adecuado. Asimismo, se recomienda revisar las condiciones sanitarias en las plantas sacrificadoras en sus distintas áreas del proceso para asegurar la eliminación de agentes patógenos en canales de pollos y por ende, poder ofrecer un producto de calidad sanitaria para los consumidores. Se debe aplicar un sistema de higiene de los equipos e instalaciones de la plantas para garantizar inocuidad en el producto final, y revisar la eficiencia de los productos a utilizar (desinfectantes, detergentes, espumas acid) que cumplan con la eliminación de la carga microbiana que quede del proceso. Asimismo, se deben adoptar códigos de buenas prácticas en el personal

responsable de las explotaciones, transporte y mataderos, de forma que todo el personal esté perfectamente formado en todas las operaciones que implican la producción de *alimentos sanos y seguros*. A las empresas se les recomienda ir mejorando en tecnología (maquinarias) para mejorar los procesos, ya que la manipulación del operario con la canal es una fuente de microorganismo

Además de las mejoras de proceso, se debe recomendar un análisis rutinario de las condiciones de procesado, tanto del instrumental como del personal. Los organismos gubernamentales competentes, universidades e institutos de investigación deben realizar una monitorización constante en las plantas sacrificadoras de pollo, para determinar la magnitud, frecuencia y distribución de los microorganismos en las canales de aves en el estado Zulia, como fuente de contaminación y riesgo potencial a la salud pública. Los criterios de toma de muestras, protocolo de muestreo, técnicas de diagnóstico y lectura de resultados deben ser revisados, adaptándose a las normas internacionales, que permitan de esta forma asegurar las condiciones sanitarias para el comercio internacional de los productos cárnicos derivados de las aves. Como indicamos en la justificación, este trabajo se ha realizado en el marco de un convenio entre la Universidad del Zulia y la Universidad de Córdoba, su importancia radica en el intercambio cultural y científico entre las investigadoras de las dos universidades, sin olvidar el reconocimiento y la puesta en valor del apoyo al desarrollo del Estado Español a países considerados en vías de desarrollo. A nivel de investigación; hay que considerarlo como un estudio preliminar para determinar la contaminación de los mataderos de aves del Estado Zulia realizando su evaluación siguiendo las normativas vigentes en Venezuela.

CONCLUSIONES

1. En el estudio realizado en 5 mataderos del Estado Zulia (Venezuela) se ha detectado la presencia de *Salmonella* spp. en el 60 por ciento de las canales envasadas (IC_{95%} 42,47-77,53%) y un recuento de aerobios mesófilos, por encima de los valores permitidos, en el 40 por ciento (IC_{95%} 22,47-57,53%) de las canales. El alto grado de contaminación de las canales con *Salmonella*, obliga a realizar estudios epidemiológicos en las granjas de origen, para aplicar adecuadas medidas de vigilancia, control y erradicación de la salmonelosis en producción primaria.
2. Se ha detectado la presencia de *Listeria monocytogenes* en el 20 por ciento (IC_{95%} 5,69-34,31%) de las canales de pollo. Dada la importancia de este microorganismo para la salud pública, se recomienda su inclusión en la evaluación de la calidad sanitaria de los productos cárnicos derivados de las aves.
3. Se recomienda la revisión del proceso de sacrificio en los mataderos estudiados, aplicando sistemas de HAPPC y buenas prácticas para evitar las contaminaciones cruzadas detectadas en las muestras analizadas.
4. Se recomienda la revisión de las *Norma Covenin Venezolana*, adaptando la presión de muestreo, tipo de muestras, técnicas de diagnóstico y lectura de resultados a la normativa internacional, para favorecer el comercio de productos cárnicos con las máximas garantías sanitarias.

En este trabajo se ha realizado un estudio para evaluar la calidad y seguridad microbiológica de canales de pollo envasadas en cinco mataderos de pollos ubicados en los municipios San Francisco, Maracaibo y Mara, del estado de Zulia, Venezuela (plantas A, B, C, D y E). Para ello se han tomado un total de 30 muestras de canales de pollo envasado entre los cinco mataderos. Asimismo, se han tomado muestras en tres áreas del procesado: evisceración, pre-enfriamiento y enfriamiento. Se analizaron un total de 150 muestras (30 de contenido intestinal, 90 de canales y 30 de agua de los tanques). Sobre las muestras recogidas, se detectó la presencia de *Salmonella* spp. y se realizó el recuento de aerobios mesófilos, basándonos en la *Norma Venezolana Covenin 2343-86 pollo beneficiado en Venezuela*. Para la detección de *Listeria monocytogenes*, se siguió la metodología descrita en la *Norma Venezolana Covenin 3718:200*.

Se detectó la presencia de *Salmonella* spp. en el 60% de las canales envasadas (IC_{95%}, 42,47-77,53%), mientras que un 40 por ciento (IC_{95%} 22,47-57,53%) superó los límites tolerables para aerobios mesófilos. Asimismo, se detectó la presencia de *L. monocytogenes* en el 20 por ciento de las canales (IC_{95%} 5,69-34,31%). Al analizar las distintas fases del procesado, se observa que la evisceración podría ser uno de los principales puntos críticos, debido al alto grado de contaminación de los animales que llegan al matadero. De igual modo, los resultados obtenidos reflejaron la existencia de contaminaciones cruzadas en el pre-enfriamiento y enfriamiento de las canales, imposibilitando la eliminación de estos agentes en el producto final.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se recomienda la aplicación de planes de vigilancia y control de *Salmonella* y *Listeria* en producción primaria, revisar las condiciones sanitarias en las plantas sacrificadoras, así como la adopción de códigos de buenas prácticas en el personal responsable de las explotaciones, transporte y mataderos. Finalmente se recomienda la revisión de las Norma Covenin Venezolana, adaptando la presión de muestreo, tipo de muestras, técnicas de diagnóstico y lectura de resultados a la normativa internacional, para favorecer el comercio de productos cárnicos con las máximas garantías sanitarias.

SUMMARY

A study to assess the microbiological quality and safety of chicken carcasses packaged in five chicken slaughterhouses located in San Francisco, Mara and Maracaibo, Zulia State, Venezuela (designed as plants A, B, C, D and E) was carried out. A total of 30 packaged chicken carcass in each plant were sampled. Also, three areas of processing: evisceration, pre-chiller and chiller were analyzed. A total of 150 samples (30 intestinal content, 90 carcass and 30 samples of water) were obtained. We detected the presence of *Salmonella* spp. and count aerobic mesophilic bacteria, based on the *Norma Venezolana Covenin 2343-86 pollo beneficiado en Venezuela*. For the detection of *Listeria monocytogenes*, the methodology described in the *Norma Venezolana Covenin 3718:200* was followed.

Of the thirty packed chicken carcasses analyzed, we detected the presence of *Salmonella* spp. in 18 (60%, 95% CI, 42.47 to 77.53), and the number of carcasses that exceeded tolerable limits for aerobic mesophilic was 40 percent (95% CI: 22.47 to 57, 53). We detected the presence of *L. monocytogenes* in 20 percent (95% CI 5.69 to 34.31) of the carcasses. When considering the different phases of processing, the evisceration is considered a critical point of the process, due to the high degree of contamination of the animals arrive at the slaughterhouse. Also, along the processing (pre-chiller and chiller) cross contamination is observed, avoiding the elimination of these microorganisms in the final product.

According to the results, we recommend the implementation of monitoring and control of *Salmonella* spp. and *Listeria* spp. in primary production; review the sanitary conditions of the slaughterhouses, and the adoption of codes of good practice on the staff responsible for the holdings, transport and slaughter. Finally we recommend reviewing the *Covenin Norma Venezolana* in relation to sampling pressure, type of samples, diagnostic techniques and results interpretation according to international standards to facilitate trade of meat products with maximum health guarantees.

AGRADECIMIENTOS

Durante la realización de esta tesis debo dar profundo agradecimiento a las Profas. Dña. Carmen Tarradas, Dña. Inmaculada Luque, Dña. Belén Huerta y Dña. Marynes Montiel quienes sin su ayuda, apoyo incondicional y colaboración nunca hubiera sido posible su realización.

Hago extensivo este agradecimiento a todo el personal integrante del Departamento de sanidad Animal de la facultad de Veterinaria de la Universidad de Córdoba.

A la Unidad de Investigación de Microbiología Ambiental de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia.

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CONDES-LUZ).

Al Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA-Zulia).

Al Departamento Regional de Higiene de los Alimentos del Estado Zulia, Venezuela.

A todas las personas y organismos que de una y otra forma han participado y colaborado en la realización de esta tesis.

A todos Muchas gracias...

BIBLIOGRAFÍA

- ARSENAULT JULIE., LETELLIER ANN., QUESSY SYLVAIN, BOULIANNE MARTINE. 2007. **Prevalence and Risk Factors for *Salmonella* and *Campylobacter* spp. Carcass Contamination in broiler Chickens Slaughtered in Quebec, Canada.** Journal of Food Protection. 70 (8), pp. 1820-1828.
- AHO, M.1992. **Problems fo *Salmonella* sampling.** Int Journal. Food Microbiol. 15: pp. 225-235.
- ASTORGA, R.J., USERA, M.A., MALDONADO A., ARENAS A., TARRADAS C., LUQUE I., PÉREZ J., PEREA A. 2002. **Marcadores epidemiológicos y sensibilidad antimicrobiana en *Salmonellas* de origen animal.** Laboratorio Veterinario Avedila, 21: pp. 2-6.
- BARTKOW- HIGGO A.J., VEARY E.H., BOSMAN A.M. 2006. **A pilot study on post-visceration contamination of broiler carcasses and ready-to-sell livers and intestines (mala) with *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in a high-throughput South Africa poultry abattoir.** Journal S. Afr Vet Assoc. Sep 77(3) pp.114-9.
- BAQUERO D., BERNAL A., CAMPUZANO S. 2006. **Determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos blancos artesanales expendidos en la plaza de Mercado de Cáqueza, Cundinamarca.** Nova- Publicación científica, Vol. 4 (6) junio pp. 80-83.
- BEAUFORT A., CORNU M., BERIS H., LARDEUX A.L 2008. **On shelf-life studies for *Listeria monocytogenes* in ready- to- eat foods.** Agence francaise de securite sanitaire des aliments. Versión 2- november pp. 1-31.
- BELL C. 2002. ***Listeria*, Una aproximación practica al microorganism y su control en los alimentos.** Ed. Acribia S.A. Zaragoza- España.
- BEUMER R.R., T.E GIFFEL M.C., ANTHONIE S.V.R., COX L.J. 1996. **The effect of acriflavin and nalidixic acid on the growth of *Listeria* spp. In enrichment media.** Journal Dairy Sci. 13: pp. 137-148.
- BOLETIN OFICIAL DEL ESTADO. Real Decreto 135/2010 de 12 de febrero por el que se derogan disposiciones relativas a los criterios microbiologicos de los productos alimenticios.
- BORGES M., SIQUIERA R., BITTENCOURT A., VANETTI C., OMIDE L. 1999. **Occurrence of *Listeria monocytogenes* in salami.** Rev. Microbiol, Vol. 30, (4) pp. 50-59.
- BOSCAM L., ARZALLUZ A., UGARTE C., SANCHEZ D., DIAZ D., WITTUM T., HOET A. 2005. **Aislamiento de *Salmonella* de importancia zoonótica en visceras de pollo beneficiados en el Estado Zulia, Venezuela.** Revista Científica Vol. XV (6) pp. 576-582.
- BOHAYCHUK V., GENSLER G., KING R., WU J., MCMULLEN L. 2005. **Evaluation of detection methods for screening meat and poultry products for the presence of foodborne pathogens.** Journal. Food Prot. Dec. Vol. 68, (12), pp. 2637-47.

- BOHAYCHUK V.M., CHECKLEY S.L., GENSLER G.E., ROMERO P. 2009. Microbiological baseline study of poultry slaughtered in provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. *Can Vet Journal*, feb.50 (2): pp. 173-178.
- BUCHANAN R. 2004. **Evaluación de riesgos de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo.** FAO/OMS.
- BUCHER O., FARRAR A., TOTTON S., WILKINS W., WADDELL L., WILHELM B., McEWEN S. 2012. **A systematic review-meta-analysis of chilling interventions and a meta-regression of various processing interventions for *Salmonella* contamination of chicken.** *Preventive Veterinary Medicine* 103 pp. 1-15.
- BRENNER F.W., VILLAR R.G., ANGLO F.J., TAXE R., SWAMINATHAN B. 2000. Guest Commentary: ***Salmonella* Nomenclature.** *Journal of Clinical Microbiology*, 38:pp. 2465-2467.
- BROWN J.E. 1995. **Nutrition now.** In **The Multiple dimensions of food safety.** Edit. West Publishing Company; pp. 32-16.
- CATARI, M.C., CASTRO G. Y SALAZAR, M. COLMENARES. 2006. **Evaluación Microbiológica de Canales de Pollo y Agua, en una Planta Procesadora de Aves durante las distintas fases del Procesamiento.**
- CANTÙ R., ÁVILA S., SIERRA G., PULIDO W., RIVERA G., BOCANEGRA V. 2007. **Detección de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* en muestras de pollo crudo y de cuerpos de agua de la región mediante PCR.** *Bioquímica*, 32, Suplemento A, 115.
- CANO R.S. 2006. **Métodos de análisis microbiológicos norma ISO.UNE.**
- CERVANTES EDUARDO LÓPEZ, Junio 2002. **El Pollo Paso a Paso su proceso industrial.** Ediciones Científicas Beta E.U.
- CERVANTES EDUARDO LÓPEZ, 2005. **Procesamiento de aves, como alcanzar el grado A. Itinerario del control de calidad.** Ediciones Científicas Beta E.U.
- COVENIN, 902-87. **Norma Venezolana Covenin 1987. Método para recuento de colonias de bacterias aerobias en placas de Petri.** Ministerio de Fomento, Venezuela. 2da. Revisión
- COVENIN, 1291-88. **Norma Venezolana Covenin. 1988. Aislamiento e Identificación de *Salmonella*.** Ministerio de Fomento, Venezuela. 1era. Revisión
- COVENIN, 2343-86. **Norma Venezolana Covenin. 1986. Pollo beneficiado.** Ministerio de Fomento, Venezuela.
- COVENIN, 3718:2001. **Norma Venezolana Covenin. 2001. Aislamiento e Identificación de *Listeria monocytogenes* en alimentos.** Ministerio de Fomento, Venezuela.

- COX J. 1999. *Salmonella*. In: Robinson RK., Batt C.A., Patel P.D. (Eds); **Encyclopedia of food microbiology**. Academic Press, San Diego, California, pp. 1928-1976.
- CLARK R.C., GYLES C.L. 1993. *Salmonella*. En: Gyles C.L., Thoen C.O. **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. Second edition, Iowa State University Press, Ames, pp. 133-153.
- CROSA J.H., BRENNER D.J., W.H., FALKOW S. 1973. **Molecular relationships among the *Salmonella***. Journal of Bacteriology, 115:pp. 307-315.
- CHIARINI E., TYLER K., FARBERT J., PAGOTTF., DESTRO M. 2009. ***Listeria monocytogenes* in two different poultry facilities. Manual and automatic evisceration**. Poultry Science 88:pp. 791-797.
- DAVIES, P.R., TURKSON, P.K., FUNK, J.A., NICHOLS, M.A., LADELY, S.R., FEDORKA-CARY, P.J., 2000b. **Comparison of methods for isolating *Salmonella* bacteria from feces of naturally infected pig**. Journal Applied Microbiol. 89: pp. 169-177.
- DOYLE, P.M., BEUCHAT R.L., MONTVILLE T.J. 2001. **Microbiología de los alimentos fundamentos y fronteras**. 1ra Edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España pp. 69-77.
- CHAVEZ C. Y ARIAS M. 2009. **Caracterización de cepas de *Listerias monocytogenes* realizados a partir de queso fresco proveniente de diferentes zonas productoras costarricenses**. Sociedad Latinoamericana de Nutrición. Vol. 59 (1) pp. 66-70.
- CHÁVEZ-DELA PEÑA, M.E., A.L. HIGUERA-IGLESIAS, M.A. HUERTA-JIMÉNEZ, R. BAÉZ-MARTÍNEZ, J. MORALES-LEÓN, F. ARTEAGA-CABELLO, M.S. RANCEL-FRAUSTO, S. PONCE DE LEÓN-ROSALES. 2001. **Brote por *Salmonella enteritidis* en trabajadores de un hospital**. Salud Pública de México. Vol. 43:pp. 211-216.
- ESPINOZA A., DE LA TORRE M., SALINAS M. Y SÁNCHEZ V. 2004. **Determinación de *Listeria monocytogenes* en quesos frescos de producción artesanal que se expenden en los mercados del distrito de Ica, enero- marzo 2003**. Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública 21(2).
- FIGUERA B., CABELLO A., VILLALOBOS L., MARQUEZ Y., Y VALLENILLA O. 2005. **Crecimiento de *Listeria monocytogenes* en atún ahumado empacado al vacío**. Zootecnia Tropical 23(2): pp. 171-181.
- GASANOV U., HUGHES D., HANSBRO P. 2005. **Métodos para el aislamiento y la identificación de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes*: Una revisión**. Revisiones de la microbiología de FEMS 29 (5) pp. 851-875.
- GALVAO S.H. 2012. **Oportunidades y desafíos de la producción de alimentos para la salud humana**. 16ª Revisión interamericana a nivel ministerial en salud y agricultura (RIMSA 16) Santiago de Chile 26-27 junio pp. 1-27.

- GALANIS E., WONG LO. FO., DANILO M.A., PATRICK M., BIINSETEIN N., CIESLIK A., THOGCHAI CH., AIDARA- KANE A., ELLIS A., ANGULO F., WEGERNER H. 2006. **We-based surveillance and global *Salmonella* distribution, 2000-2002.** Emerging Infectious diseases Vol. 2 (3) marcha pp. 381-391.
- HARVEY, R. W. S., PRICE, T. H. 1989 ***Salmonella* isolation with Rappaport's médium after pre-enrichment in buffered peptone wáter using a series fo inoculum ratios.** Journal Hyg. 85: pp.125-128.
- HENDRIKSEN R., MIKOLEIT M., CARLSON V., KARLSMOSE S., VIEIRA A., JENSE A., SEYFARTH A., De LONG S., WEILL F., LO FO WONG D., ANGULO F., WEGENER H., AARESTRUP F., 2009. **Who global salm-surv external quality assurance sytem for serotyping of *Salmonella* isolate from 2000 to 2007.** Journal of Clinical Microbiology. Sep. pp. 2729-2736.
- HEYNDRICKX M., VANDEKERCHVE D., HERMAN L., ROLLIER I., GRIJSPEERDT K., ZUTTER L DE. 2002. **Routes for *Salmonella* contaminacion of poultry meat: Epidemiological study from hatchery to slaughterhouse.** Epidemiology and Infections 123, pp. 253-265.
- HILKER, J.S. 1975. **Enrichment serology and fluorescent antibody procedures to detect *Salmonella* in food.** Journal of Milk and Food Technology. 38:pp. 227-231.
- HOORFAR, J., MORTENSEN, A. V. 2000. **Improved cultura methods for isolation of *Salmonella* organismos from swine feces.** Amer Journal Vet Res. 61; pp. 1426-1429.
- INFANTE D., NOGUERA C., LEÓN A., CATARI M., HERRERA A. Y VALDILLO P. 1994. **Aislamiento de *Salmonella* en carne de pollos.** Veterinaria Tropical 19: pp. 91-99.
- INFORME CIENTÍFICO DE LA EFSA. 2010. **Autoridad Europea de Seguridad Alimentaría.** EFSA Journal 8 (03):1503, pp. 100.
- LE MINOR L. 1984. Genus III: *Salmonella*. En: Krieg N.R., Holt J.G. (Eds). **Bergey's manual of Systematic Bacteriology.** Williams & Wilkins, Baltimore, 1: pp. 427-458.
- LE BOUQUIN S., ALLAIN V., PETETIN I., PICHEROT M., MICHEL V., CHEMALY M. 2010. **Prevalence and risk factors for *Salmonella* spp. contamination in french broiler- chicken flocks at the end of the rearing period.** Preventive Veterinary Medicine 9, pp. 245-251.
- LÓPEZ V., ORTIZ S., CORUJO A., LÓPEZ P., MORENO R., MARITINEZ J. 2008. **Different contamination patterns of lineage I and II strains of *Listeria monocytogenes* in a spanish broiler abattoir.** Poult Sci. Sep 87 (9):pp. 1874-82.

- LOPEZ V., SUAREZ I., CHICO C., NAVAS J., MARTINEZ J. 2006. ***Listeria monocytogenes* en alimentos ¿Son todos los aislamientos igual de virulentos?** Revista Argentina de Microbiología Vol. 38, pp. 224-234.
- MAINALI C., GENSLER G., Mc FALL M., KING R., IRWIN R., SENTHILSELVAN A. 2009. **Evaluation of associations between feed withdrawal and other management factors with *Salmonella* contamination of broiler chickens at slaughter in Alberta.** Journal Food Prot. Oct 72 (10): pp. 2202-7.
- MARZOCCA M., MARUCCI P., SICA G., ALVAREZ E. 2004. **Detección de *Listeria monocytogenes* en distintos productos alimenticios y en muestras ambientales de una amplia cadena de supermercados de la ciudad de Bahía Blanca (Argentina).** Revista Argentina de Microbiología. Vol. 36 (4) pp.179-181.
- MARIN C., BALASCH S., VEGA S., LAINEZ M. 2011. **Sources of *Salmonella* contamination during broiler production in Eastern Spain.** Preventive Veterinary Medicine pp. 9839-45.
- MARTINEZ R., VILLALOBOS L. 2004. **Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en atún fresco expedido en la ciudad de Cumaná, Venezuela.** Revista científica FCV-LUZ. Vol. 14 (4) pp. 38- 49.
- MATA T., SÁNCHEZ F., ESPINOSA M. Y., VILLARREAL T. 2008. **Incidencia de especies de *Listeria* en una planta productora de alimentos congelados.** Ciencia UANL. Vol. IX, (1) Enero-Marzo.
- MATOS M.V., HUERTA N., FERRER O. 2000. **Evaluación microbiológica de los puntos críticos en la cadena de procesamiento de una planta beneficiadora de pollos del estado Zulia.** Revista Científica, vol.10 (5) pp. 405-409.
- MALLINSON, E. T., MILLER, R. G., REZENDE, C. E., FERRIS, K. E., DE GRAFT-HANSON, J. JOSEPH, S.W. 2000. **Improved plating media for the detection of *Salmonella* species with typical and atypical hydrogen sulphide production.** Journal Vet Diag Invest. 12: pp. 414-417.
- MIETTINEN M.K., PALMU L. BJORKROTH K.J., KORKEALA H. 2001. **Prevalence of *Listeria monocytogenes* in broilers at the abattoir, processing plant, and retail level.** Journal Food Prot. Jul 64 (7): pp. 994-9.
- MILLER, S.I., HOHMANN, E.I., PEQUES, D.A. 1995. *Salmonella* (Including *Salmonella typhimurium*). In: MANDELL, G.L., BEMETT'S. **Principles and practices of infectious disease.** Churchill Livingstone, New York, USA, pp. 2013-2033.
- MOLERO G., PEREZ A. M., MAVAREZ M., SÁNCHEZ A., ASCANIO E. Y OVIEDO M. 2006. **Residuos de enrofloxacin en tejido hepático y muscular de pollos beneficiados en el municipio San Francisco, Zulia, Venezuela.** Revista Científica FCV-LUZ, Vol. XVI (6) pp. 629-633.
- MOLERO G., TARRADAS C., RAMÍREZ I., GALLARDO F., MONTIEL M. 2010. **Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* durante el proceso**

de beneficio de pollos en plantas beneficiadoras en el estado Zulia, Venezuela. Ciencia. 18(2), pp. 108-114.

MORRILLO A., RODRÍGUEZ S., INFANTE D., NOGUERA C., LEÓN A., HERRERA A., VALDILLO P. 1996. **Detección de *Salmonella* spp. en alas y vísceras comestibles de pollo.** Veterinaria Tropical 21(1) pp. 49-58.

MOLINA N., MILLAN B., ARAQUE M. 2010. **Indicadores de calidad sanitaria y fenotificación de *Salmonella* aislada de pollos crudos comercializados en el área urbana de Mérida, Venezuela.** Revista Infecto. 14(3): pp.174-185.

MURRAY P., ROSENTHAL K., PFALLER M. 2006. **Microbiología Médica**, 5ta Ed. Elsevier pp. 255.

MUTH M.K., FAHIMI M., KARNS S.A. 2009. **Analysis of *Salmonella* control performance in U.S. Young chicken slaughter and pork slaughter establishments.** Journal Food Prot. Jan; 72(1): pp. 6-13.

MCLAUHLIN J., MITCHELL R., SMERDON W., JEWELL K. 2004. ***Listeria monocytogenes* and *Listeriosis*: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods.** Journal of food Microbiol. Vol. 92, (1) pp. 13-15.

NAUGLE A.L., BORLOW K.E., EBLEN D.R., TETER V., UMHORLTZ R. 2006. **U.S. Food safety and inspection service testing for *Salmonella* in selected raw meat and poultry products in the united states, 1998 through 2003: analysis of set results.** Journal Food Prot. Nov. 69 (11) pp. 2607-14.

PINEDA Y., MORA Y. 2006. ***Listeriosis*.** Revista digital hoy CENIAP. N° 11 mayo-agosto

PIGNATO, S., MARINO, A. M., EMANUELE, M. CH., IANNATTA, V. CARACAPPA, S., GIAMMANCO, G, 1995. **Evaluation of new cultura media for rapid detection and isolation of *Salmonella* in foods.** Appl Environ Microbiol. 61: pp. 1996-1999.

PÉREZ C., MERCADO M., CARRASCAL A. 2008. **Incidencia de *Listeria* spp. en carcasas de pollo congelado en un supermercado del nororiente de Bogota.** Ciencias Biomédicas 6(10) julio-diciembre, pp. 101-236.

PÉREZ C., RIVIERA S., PIRELA A., RINCÓN H., MAVAREZ Y., ROMÁN R. 2004. **Aislamiento de *Salmonella* en carne de aves y evaluación de la efectividad de diferentes medios enriquecidos y selectivos.** Revista Científica 14 (2) Maracaibo abr.

PLYM-FORSHELL L., ESKEBO I. 1996. **Survival of *Salmonella* in urine and dry faeces from cattle-an experimental study.** Acta Veterinaria Scandinavica, 37: pp. 127-131.

PROCEDIMIENTO: Enumeración *Listeria monocytogenes* en alimentos ISO 11290-2 modificada. Instituto Salud Pública de fecha 06/10/2010, pp. 1-20.

RAMIREZ L., MORON A., ALFTERI A., GAMBOA O. 2009. **Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en muestras de tomates (*Lycopersicum esculentum*) y**

- cilantro (*Coriandrum sativum*) frescos en tres supermercados de Valencia, Venezuela.** Sociedad Latinoamericana de Nutrición Vol. 59 (3) Caracas-Venezuela.
- RAMIREZ L., MORON A., ALFTERI A., GAMBOA O. 2010. **Detección de *Listeria monocytogenes* en queso blanco criollo, mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).** Sociedad Latinoamericana de Nutrición Vol. 59 (3) Caracas-Venezuela.
- RASSCHAERT, G., HOUT, K., GODARD, C., WILDEMAUWE, C., PASTURZCAZK-TRAK M., DE ZUTTER, L. 2008. **Contamination of carsses with *Salmonella* during poultry slaughtes.** Journal Food Prot. 71(1): pp.146-52.
- RICAUTE G., 2005. **Occurrence of *Campylobacter* and *Listeria monocytogenes* in a poultry processing plant.** Journal Food Prot. Sep. Vol. 68, (9) pp. 1903-6.
- REUBEN A., TREMINIO H., ARIAS M., CHAVES C. 2003. **Presencia de *Escherichia coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. en alimentos de origen animal en Costa Rica.** ALAN Vol. 53 (4) Caracas.
- REGISTROS DE ENFERMEDADES TRASMITIDAS POR LOS ALIMENTOS (ETA). 2006. Ministerio de Salud. Departamento de Epidemiología del Estado Zulia. Maracaibo, Venezuela.
- REPORTES SITUACIÓN ACTUAL SOBRE LAS PLANTAS BENEFICIADORAS DE AVES. 2006. Ministerio de Salud. Departamento de higiene de los alimentos del Estado Zulia. Maracaibo, Venezuela.
- REGLAMENTO 2073/2005. **Criterios microbiológicos producción de alimentos.** Comisión DOL 338 de 22/12/2005.
- REGLAMENTO (CE) N° 852/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004. Relativo a la higiene de los productos alimenticios.
- REGLAMENTO (UE) N° 1086/2011 de la Comisión de 27 de octubre de 2011, por el que se modifica el nexo II del Reglamento (CE) N° 2160/2003 del Parlamento Europeo y Consejo y el Anexo I del Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión en lo que concierne a la *Salmonella* en la carne de ave de corral.
- RIVERA F., WESLEY I., HURD S., SIMOES D., SOSA A., RIVERA S. 2006. **Determinación microbiológica y molecular de *Listeria* spp y *Listeria monocytogenes* en cerdas a nivel de una planta beneficiadora en EUA.** Revista científica FCV-LUZ. Vol. XVI, (3) pp., 297-307.
- ROBERTS D. HOOPER W., GREENWOOD M. 2000. **Microbiología de los alimentos.** Edit. Acribia S.A. Zaragoza, España.
- RODRIGUEZ E., CABRERA L., COLINA G. 2009. ***Listeria monocytogenes* en queso amarillo madurado tipo Edam y su resistencia al pH y salinidad.** Ciencias Biomédicas Vol. 7 (11) pp.71-79.

- RODRIGUEZ-CAVALLINI E., RODRIGUEZ C., GAMBOA M DEL M., ARIAS ML. 2010. **Evaluación microbiológica de alimentos listos para consumo procesados por pequeñas industrias costarricenses.** Archivos Latinoamericanos de Nutrición Vol.60 (2) pp.179-183.
- ROJAS R. Y GONZÁLEZ T. 2006. **Detección e identificación de bacterias causantes de enfermedades transmitidas por los alimentos mediante la reacción en cadena de la polimerasa.** 31(2) abril-junio, pp. 69-76.
- SANTOS F.F., AQUINO M.H.C., NASCIMENTO E.R., ABREU D.L.C. GOUVEA R., RODRIGUEZ D.P., REIS E.M.F., ARAUJO M.S. PEREIRA L.A. 2011. **Chickens feet bacteriological quality at 4 steps of technological processing.** Poultry Science 90: pp. 2864- 2868.
- SAMPIERS I., JACXSENS L., LUNING PA., MARCELIS WJ., DUMOULIN A., UYTENDAELE M. 2010. Performance of food safety management systems in poultry meat preparation processing plants in relation to *Campylobacter* spp. contamination. Journal Food Prot. Aug. 73(8): pp. 1447-57.
- SAKARIDIS I., SOULTOS N., LOSSIFIDOU E., PAPA A., AMBROSIADIS I., KOIDIS P. 2011. Prevalence and antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* isolated in chicken slaughterhouses in Northern Greece. Journal Food Prot. Jun. 74 (6):pp. 1017-21.
- SEPÚLVERA A., MARTINEZ NE., RAMIREZ AC., RAYGOZA M., TRUJILLO F. 2002. ***Listeria monocytogenes* como bioindicador sanitario para el control ambiental de las aguas incorporadas a los embalses.** Rev. Cubana de Higiene y Epidemiología. Vol. 3 pp.59-62.
- SHELOBOLINA E.S., SULLIVAN S.A., O'NEILL K.P., LOVELEY D.R. 2004. **Isolation, characterization, and U (VI)-reducing potential of a facultatively anaerobic, acid-resistant bacterium from low-pH, nitrate- and U (VI)-contaminated subsurface sediment and description of *Salmonella subterranea* sp. nov.** Applied and Environmental Microbiology, 70(5): pp.2259-2965.
- SCHWARTZ K.J. 1999. *Salmonellosis*. En Straw, B.E., S'Alaire, S., Mengeling W.L., Taylor D.J. (Eds). **Diseases of swine. Blackwell Science, LTD.** Oxford, pp. 535-551.
- TINDALL B.J., GRIMONT P.A.D., GARRITY G.M., EUZEBY J. 2005. **Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*.** International Journal Systematic Evolution Microbiology, 55: pp. 521-524.
- TORRES K., POULTOU R., CARRASCAL A., SIERRA S. Y MERCADO M. 2004. **Validación de PCR para detección de *Listeria monocytogenes* en carne crudas de res y pollo.** MVZ- Córdoba. Vol. 9 (2) pp. 414-427.
- TORRES V.M.R., CASTILLO A.A. 2002. **Agentes patógenos transmitidos por los alimentos.** Vol. II. Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.

- TREPAT M. 2002. **Incidencia y comportamiento de *Salmonella* y *Listeria* en pechugas de pavo curadas.** Universidad Autónoma de Barcelona Facultad de Veterinaria.
- VALERA M., FERRER O., HUERTA N. ESPARZA D. 1997. **Efecto del enfriamiento sobre la calidad microbiológica del pollo beneficiado.** Revista científica, FCV-LUZ/ Vol. VII, (3) pp. 205-208.
- VOIDAROU C., VASSOS D., ROZOS G., ALEXOPOULOS A., PLESSAS S., TSINAS A., SKOUFOU M. 2011. **Microbial challenges of poultry meat production.** Anaerobe 17, pp.341-343.
- WALKER I., HARMON K., DICKSON J. Y SCHWARTZ A. 1999. **Application of multiplex polymerase chain reaction assay for the simultaneous confirmation of *Listeria monocytogenes* and other *Listeria* species in turkey sample surveillance.** J. of Food Prot. Vol. 65 (5) pp. 780-785.
- WALTMAN, W.D.2000. ***Salmonella* in Domestic Animals.** Wray C., Wray, A. (Eds), CABI Publishing, Reino Unido pp. 355-372.
- WILHELM B., RAJIC A., GREIG JD., WADDELL N., HARRIS J. 2011. **The effect of hazard analysis critical control point programs on microbial contamination of carcasses in abattoirs: a systematic review of published data.** Foodborne Pathog Dis. Sep. 8 (9): pp. 949-60.
- WILLIAMS M.S., EDEL E.D. 2012. **Foodborne pathogens and disease.** January 9 (1) pp. 59-67.
- ZHANG L., JEONG JY., JANARDHANAN K.K., RYSER E.T., KANG I. 2011. **Microbiological quality of water immersion - chilled and air- chilled broilers.** Journal Food Prot. Sep; 74 (9):pp.1531-5.