

MONITOREO DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE CANALES BOVINAS PROVENIENTES DE UNA FAENADORA DE VILLA MARÍA, CÓRDOBA, ARGENTINA



Moyano S.*; Tabasso M.; Reynoso J.; Marín G.
 Facultad Regional Villa María - Universidad Tecnológica Nacional. Villa María, Córdoba, Argentina.
 *silmoiano@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

En las operaciones de faena de ganado bovino realizadas en mataderos-frigoríficos el riesgo principal es la contaminación con microorganismos de origen fecal (Arenas de M. L., 2004). Las Buenas Prácticas de Manufactura han sido durante mucho tiempo habituales en muchos mataderos y frigoríficos. A pesar de ello, estudios recientes sobre la condición microbiológica de las canales bovinas y de la carne de vacuna indican que el número de *Escherichia coli* en gran parte de los productos cárnicos puede aumentar durante los procesos de desposte y trozado de la carne. De esta manera, los esfuerzos actuales para mejorar la seguridad microbiológica de carne están enfocados en la reducción de la contaminación peligrosa durante el faenado de los animales, basados en el supuesto de la poca contaminación que se produce en las etapas posteriores de procesamiento de la carne en un matadero aparentemente bien limpio (Gill *et al.*, 1999a; Gill *et al.* 1999b; Gill *et al.*, 1998).

La evaluación del riesgo higiénico en un proceso de recolección de carne debe implicar la enumeración de un organismo indicativo de contaminación fecal, tal como *E. coli*, en puntos específicos del proceso. La investigación ha demostrado que la contaminación y la contaminación cruzada de las canales durante las operaciones de matanza y desposte se traduce en la presencia, en algún nivel, de bacterias de potencial importancia para la salud pública (Biss y Hathaway, 1995; Charlebois *et al.*, 1991; Doyle, 1991; Ingram y Roberts, 1976; Nortje *et al.*, 1989, 1990; Roberts, 1980). Por lo tanto, el objetivo del control microbiológico es reducir la contaminación cruzada al nivel más bajo posible (Brown *et al.*, 2000).

RESUMEN

Se determinó la contaminación inicial de la carne faenada en el frigorífico de la Ciudad de Villa María, Córdoba. Se analizaron muestras de hisopados en superficie de 25 canales bovinas, de acuerdo a la Directiva 64/433/CEE de la Unión Europea. En cada muestreo mensual (cinco en total) se analizaron cinco canales (medias reses) de la misma faena en distintos lugares: brazuelo (2), falda (2) y nalga (1). Se determinó recuento de aerobios mesófilos totales, enterobacterias, coliformes totales, *Escherichia coli* (presencia-ausencia en 0,1 g), recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) y *Clostridium* sulfito reductores. Se aplicaron las técnicas de la International Commission of Microbiological Specifications for Food (ICMSF). Los resultados promedio fueron menores al límite para canales bovinas establecido por la UE (2005). La carne bovina faenada cumple con los requisitos de higiene establecidos por la UE.

Palabras clave: Hisopados de canales, contaminación, monitoreo microbiológico, carne fresca.

No había ningún estudio científico que evaluara la contaminación bacteriana o la prevalencia de patógenos en canales de bovino durante las operaciones de faenamiento en el matadero de la ciudad de Villa María (Córdoba, Argentina). En este estudio, se evaluaron las características higiénicas del proceso de faena mediante la determinación de bacterias aeróbicas (APC), enterobacterias, coliformes totales, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo y *Clostridium* sulfitorreductores.

MATERIALES Y MÉTODOS

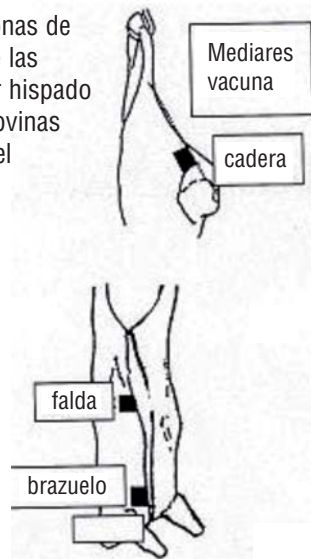
Se tomaron muestras por hisopado en superficie de 25 canales (medias reses) bovinas recién faenadas, de acuerdo a las especificaciones de la Directiva 64/433/CEE de la Unión Europea. En cada visita (cinco en total) se tomaron muestras de cinco canales de la misma faena en distintos lugares de la misma canal (dos en brazuelo, dos en falda y uno en nalga) (Figura 1) en el período de diciembre a junio de 2016. Cada hisopado se homogeneizó en una solución de 0,1% (peso/vol) a pH 7,0, de 100 ml de agua de peptona. Una porción de 1 ml se utilizó para preparar diluciones de 10 decimales hasta 10⁻³ en 0,1% de agua de peptona.

Se determinó recuento de aerobios mesófilos totales, enterobacterias, coliformes totales, *Escherichia coli* (presencia-ausencia en 0,1 g), recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa(+) y *Clostridium* sulfitorreductores. Las técnicas analíticas aplicadas son las especificadas por International Commission of Microbiological Specifications for Food (ICMSF, 2000). Los medios de cultivo utilizados fueron:

- Para recuento de aerobios mesófilos totales. Agar de recuento en placa (PCA).
- Para enterobacterias. Agar violeta – rojo neutro - bilis glucosa (VRBG).
- Para coliformes totales. Agar violeta - rojo neutro – bilis – lactosa (VRBL).
- Para *Escherichia coli* (presencia-ausencia en 0,1 g). Siembra de 1 ml de cada hisopado en caldo BRILA. Identificación por pruebas bioquímicas: Fermentación de glucosa, fermentación de lactosa, producción de gas, producción de sulfhídrico, producción de indol, movilidad, descarboxilación de urea, crecimiento en citrato. Todas estas pruebas corresponden al Enterotest hospitalario básico (Brizuela).
- Para *Staphylococcus aureus* coagulasa(+). Agar Baird Parker.
- Para *Clostridium* sulfitorreductores. Siembra en tubos de 10 ml de Agar TSC (Tryptona Sulfioe Cicloserina).

Los datos obtenidos fueron transformados logarítmicamente (log₁₀ ufc/cm²) y analizados estadísticamente utilizando software específico.

Figura 1 - Zonas de extracción de las muestras por hispado de canales bovinas faenadas en el matadero de Villa María



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido que no hay estudios realizados que impliquen el monitoreo microbiológico del proceso de faena de canales bovinas en el matadero-frigorífico de la ciudad de Villa María, se decidió comenzar con un plan de extracción de muestras de hisopados de canales bovinas. Cabe señalar que durante la faena y desposte de los bovinos se aplican los principios básicos de las

CONTROL DE PLAGAS EN LA INDUSTRIA
Dir. Tec. Ing. Agr. Gustavo Iván Adamec



Manejo Integrado de Plagas (MIP)
para la Industria Alimenticia y/o Farmacéutica.
HABILITACIONES: Municipales, Provinciales y Nacionales

SERVICIOS AMBIENTALES BUENOS AIRES S.R.L.
La Roche 839 - Morón (1708) Buenos Aires.
Tel. 4627-1313
info@fumigadorasaba.com.ar

www.fumigadorasaba.com.ar

TABLA 1 - Cantidad de animales faenados en el Frigorífico de Villa María (Córdoba)

MES	ANIMALES FAENADOS (Promedio Mensual)	KILOS (Promedio)
Noviembre 2015	185	37760
Enero 2016	139	28203
Febrero 2016	159	32192
Marzo 2016	156	31050
Abril 2016	137	27633
Mayo 2016	144	29160
Junio 2016	154	31108
PROMEDIO TOTAL	153,4	31015

Buenas Prácticas de Manufactura. En la tabla 1 se detalla la cantidad de animales y los kilos faenados durante el período de muestreo. Con un promedio aproximado de 150 animales por día, este matadero-frigorífico puede clasificarse como mediano por su producción. El método de sacrificio utilizado para la faena de los bovinos es el tradicional, con noqueo con martillo neumático.

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos, con excepción del recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo y *Clostridium* sulfito reductores, cuyas determinaciones fueron negativas en todos los análisis realizados. La decisión de realizar las determinaciones mencionadas se debió a que *Staphylococcus aureus* coagulasa (+) es causante de la intoxicación estafilocócica y es un buen indicador del grado de contacto humano o con alimentos naturales no tratados de origen animal dentro de una fábrica de alimentos. Con frecuencia se presenta en carnes de mamíferos y aves cocinadas, quesos, productos de pastelería rellenos de crema, leche y ensaladas a base de papas o huevo. El control de los brotes de enfermedad por enterotoxina estafilocócica depende en gran medida del mantenimiento de los alimentos a una temperatura adecuada. Los estafilococos pueden multiplicarse exponencialmente entre 6 y 45°C (A.A. Brizzio *et al*, 2011). Muchos alimentos crudos -entre los que se cuenta la carne y los productos lácteos no pasteurizados- contienen normalmente números reducidos de estafilococos. Durante la manipulación en los cortes de carne al menudeo no hay un riesgo especial de estafilococos debido que las temperaturas normales de manipulación son demasiado bajas para el crecimiento (inferior a los 10°C) y para la producción de toxina (por debajo de los 20°C se produce lentamente).

Además el desarrollo de estos microorganismos y la producción de toxina pueden inhibirse al crecer junto con bacterias el grupo *Pseudomonas-Acinetobacter-Moraxella* (ICMSF, 1995; Collins-Thompson *et al*, 1973). Esto explica la ausencia de *S. aureus* en las muestras de hisopados analizadas en este estudio.

En relación a la determinación de *Clostridium* sulfito reductores, se trata de un grupo asociado a los *Clostridium* spp, como tales se caracterizan por ser organismos Gram positivos, anaeróbicos, formadores de esporas, que están normalmente en las heces, aunque en número mucho más reducido que *E. coli*. Su representante más característico es *Clostridium perfringens* (OMS, 1995). Estos microorganismos se presentan a veces en el interior de la masa

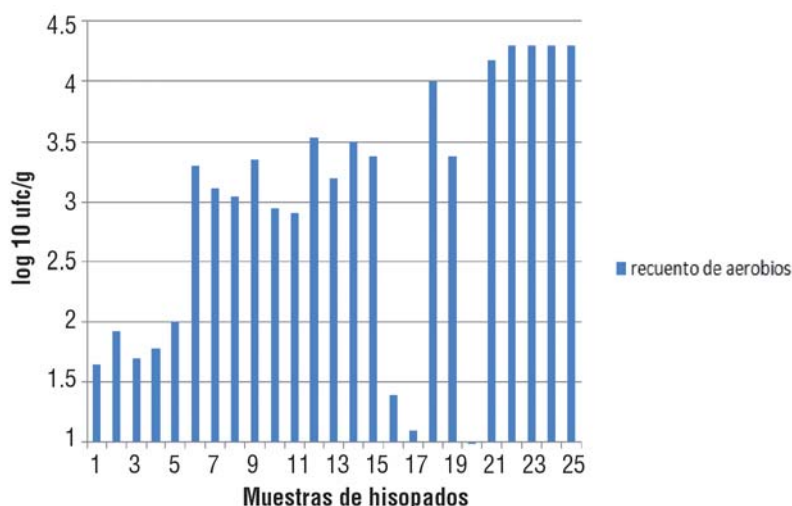
cárnica de la canal en forma vegetativa y en pequeño número, generalmente menos de una bacteria cada 10 gramos. Tales células bacterianas se destruyen durante el cocinado ordinario y no crean problemas especiales. Las esporas de *C. perfringens* que son las responsables indirectas de las toxiinfecciones alimentarias tienen un origen variado y no hay pruebas que demuestren que las formas vegetativas esporulen en la carne. Por lo tanto, no parece necesario establecer en la carne criterios numéricos para *C. perfringens*; estas bacterias sólo son peligrosas cuando se descuidan las temperaturas de almacenamiento de los alimentos y la mejor forma de controlarlas es prestando atención a la temperatura (ICMSF, 1985). Estas serían las causas (junto que se trató de un hisopado de superficie) de la ausencia de *C. perfringens* en las muestras analizadas.

Con respecto al recuento de Aerobios Totales, los datos obtenidos durante los cinco muestreos indican que ninguno superó el límite de "Condicionamente aceptable" para la Unión Europea (Moragas Encuentra, M. *et al*, 2015), siendo el promedio total del recuento de aerobios de 2,65 (SD + 1) log₁₀ ufc/cm², con excepción del muestreo cinco, donde se superó las 4,30 log₁₀ ufc/cm² (menor al establecido de 3,5 log₁₀ ufc/cm²) (Tabla 2).

En la determinación de enterobacterias y coliformes totales (donde se calculó el promedio sin los resultados del muestreo cinco) los resultados fueron de 0,95 (SD + 1.01) log₁₀ ufc/cm² para enterobacterias y 0,97 (SD + 0,97) log₁₀ ufc/cm² para coliformes. El límite m (Condicionamente aceptable) para enterobacterias establecido por la UE (Moragas Encuentra, M. *et al*, 2015) es superior a los valores obtenidos en este estudio (Tabla 5). Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Gill, C.O. *et al* (1999a) y por Arenas de M., L. en un pequeño matadero en Venezuela (Arenas de M., L. *et al*, 2004) en investigaciones sobre contaminación de canales faenados. En las figuras 2 y 3 se muestran los resultados de los recuentos de aerobios, enterobacterias y coliformes de los hisopados de las canales bovinas.

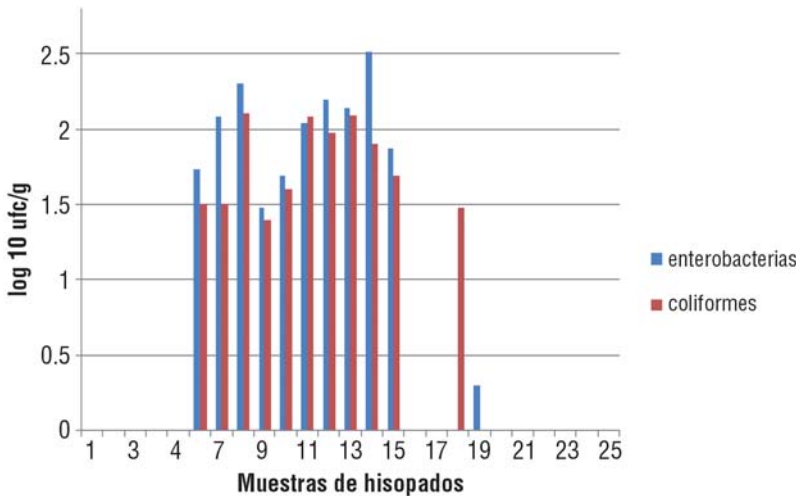
TABLA 2 - Resultados de los análisis microbiológicos de los hisopados realizados en el Frigorífico de Villa María

MUESTRA	MUESTREO Número y Lugar de muestreo	RECuento AEROBIOS log ufc/cm ²	ENTEROBACTERIAS log ufc/cm ²	COLIFORMES log ufc/cm ²	<i>E.coli</i> Ausencia/ 100cm ²
1	1 Falda	1,65	0	0	0
2	1 Falda	1,92	0	0	0
3	1 Falda	1,69	0	0	0
4	1 Falda	1,78	0	0	0
5	1 Falda	1,95	0	0	0
PROMEDIO		1,825	0	0	0
1	2 Brazuelo	3,30	1,73	1,5	+ Coli fecal
2	2 Brazuelo	3,11	2,08	1,5	+ Coli fecal
3	2 Brazuelo	3,04	2,30	2,11	0
4	2 Brazuelo	3,35	1,48	1,32	0
5	2 Brazuelo	2,94	1,69	1,60	0
PROMEDIO		3,12	1,856	1,622	0
	3 Nalga	2,90	2,04	2,08	0
	3 Nalga	3,53	2,20	1,95	+
	3 Nalga	3	2,14	2,09	0
	3 Nalga	3,50	2,51	1,9	+
	3 Nalga	3,38	1,87	1,69	0
PROMEDIO		3,302	2,152	1,948	Presencia (2+
	4 Falda	1,39	0	0	0
	4 Falda	0,84	0	0	0
	4 Falda	4	0	0	0
	4 Falda	3,38	0,30	0	0
	4 Falda	0,30	0	0	0
PROMEDIO		2,034	0,06	0	0
	5 Brazuelo	4,14	0	0	0
	5 Brazuelo	>4,30	0	0	0
	5 Brazuelo	>4,30	0	0	0
	5 Brazuelo	>4,30	0	1,48	0
	5 Brazuelo	>4,30	0	0	0
PROMEDIO		4,274	0	0,296	0

FIGURA 2 - Recuento de aerobios mesófilos en hispados de canales bovinas faenadas en el matadero de Villa María

Como se detalla en la tabla 2, en la investigación de la presencia de *E. coli* sólo dos muestras de la zona de la nalga fueron positivas. Estos aislamientos, realizados en agar eosina azul de metileno (EMB) de los tubos positivos de caldo BRILA (lactosa bilis brillante), se identificaron con el Enterotest hospitalario para la clasificación de enterobacterias (Tabla 5). Esta presencia de *E. coli* puede ser atribuida a la cercanía de la nalga a la zona anal, por ser contaminación de origen intestinal. Cabe destacar que dos muestras de brazuelo (positivas por crecimiento en caldo BRILA a 45°C) se identificaron como *Enterobacter* sp. (Tablas 2 y 3).

FIGURA 3 - Recuento de enterobacterias y coliformes en hispados de canales bovinas faenadas en el matadero de Villa María



En cuanto a la influencia de la zona de muestreo de las canales, en la tabla 4 se observa luego de realizar el test de ANOVA (Análisis de varianza) que hay diferencias significativas tanto para la determinación de aerobios mesófilos, determinación de enterobacterias y coliformes totales. En la investigación realizada por Arenas de M., L. en Venezuela también se encontró que hay diferencias significativas en los resultados obtenidos con respecto a la región de la canal muestreada (Arenas de M., L., 2004). En nuestro trabajo, la zona más contaminada fue la nalga, cuyo promedio en el recuento de aerobios mesófilos fue de 3,30 log₁₀ ufc/cm² (Tabla 2), exceptuando el quinto muestreo.

TABLA 3 - Resultados del Enterotest hospitalario en los aislamientos de coliformes fecales de hispados de canales bovinas faenadas en el matadero de Villa María

PRUEBAS DE ENTEROTEST	Aislamiento de coliformes fecales positivos en Agar Eosina azul de Metileno (EMB)			
	Muestra 1. Muestreo 2	Muestra 2. Muestreo 2	Muestra 2. Muestreo 3	Muestra 4. Muestreo 3.
Fermentación de Glucosa	+	+	+	+
Fermentación de Lactosa	+	+	+	+
Producción de gas	+	+	+	+
Producción de SH ₂	-	-	-	-
Movilidad	+	+	+	+
Producción de Indol	+	+	-	-
Descarboxilación de urea	-	-	+	+
Crecimiento en citrato	-	-	+	+
IDENTIFICACIÓN	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter sp.</i>	<i>Enterobacter sp.</i>

TABLA 4 - Resultados del test de ANOVA de las determinaciones de aerobios, enterobacterias y coliformes de hispados de canales bovinas faenadas en el matadero de Villa María

Recuento de aerobios. TEST DE ANOVA					
Source	DoF	Squares	Square	F Value	P Value
Model	4	15,525	3,881	9,31826	2,0245E-4
Error	20	8,3308	0,4165		
At the 0, 5 level, the population variations are significantly different.					
Recuento de enterobacterias. TEST DE ANOVA					
Model	4	0,02717	0,00679	3,36584	0,02921
Error	20	0,040436	0,00202		
At the 0, 5 level, the population variations are significantly different					
Recuento de coliformes. TEST DE ANOVA					
Model	4	17,62006	4,405016	40,45976	2,56489E-9
Error	20	2,177480	0,1088740		
At the 0, 5 level, the population variations are significantly different					

TABLA 5 - Comparación de las normas microbiológicas de alimentos de la UE con los resultados obtenidos en los hisopados de canales bovinas faenadas en el matadero de Villa María

Alimentos	Legislación o Recomendación	Aerobios Mesófilos	Resultados obtenidos en hisopados del matadero de Villa María (promedio)
Canales bovinas, ovinas, caprinas y equinas	Reglamento C.E. 2073/2005 modificado por reglamento C.E. 1441/2007	m= 3,5 log (3,16x10 ³) ufc/cm2 media logarítmica diaria. M= 5,0 log (10 ⁵) ufc/cm2 media loga-rítmica diaria	2,65 log ufc/cm ²
	Legislación o Recomendación	Enterobacterias	Resultados obtenidos en hisopados del matadero de Villa María (promedio)
	Reglamento C.E. 2073/2005 modificado por reglamento C.E. 1441/2007	m= 1,5 log (3,16x10) ufc/cm2 media logarítmica diaria. M= 2,5 log (3,16x10 ²) ufc/cm2 media logarítmica diaria	0,97 log ufc/cm ²

CONCLUSIONES

En este estudio se observó que hay influencia de la región de la canal muestreada, siendo la zona de la nalga la más contaminada. Es importante establecer que en el Código Alimentario Argentino y en los reglamentos técnicos del área de control de alimentos del Mercado Común del Sur (MERCOSUR) no se encuentran legislados los requisitos microbiológicos de evaluación de la higiene para los establecimientos faenadores de carne. Se concluye que la carne bovina faenada cumple con los requisitos de higiene establecidos por la Unión Europea, debido que los valores obtenidos en las determinaciones microbiológicas realizadas están por debajo al límite condicionalmente aceptable establecido por las normas europeas.

AGRADECIMIENTOS

Trabajo desarrollado por el apoyo de la Secretaria de Ciencia y Tecnología de Universidad Tecnológica Nacional. Se agradece la colaboración del personal Frigorífico Villa María para la extracción de las muestras.

BIBLIOGRAFÍA

Arenas de M, L., Huerta-Leidenz, N., Ortiz, Y., Valera-Matos, M., & Smith, C. 2004. Microbiological Contamination on Beef Carcasses in a Small Abattoir in Venezuela. Departmental Research Reports Colorado State University. En línea.
Brizzio AA, FA Tedeschi, FE Zalazar Descripción de un brote de intoxicación alimentaria estafilocócica ocurrido en Las Rosas, Provincia de Santa Fe, Argentina Rev Argent Microbiol, 2011. Pag. 28-32.

Biss, M.E., and S.C. Hathaway. 1995. Microbiological and visible contamination of lamb carcasses according to preslaughter presentation status: Implications for HACCP. J. Food Prot. 58:776-783.
Brown, M. H., C.O. Gill, J. Hollingsworth, R. Nickelson, S. Seward, J.J. Sheridan, T. Stevenson, J.L. Sumner, D.M.Theno, W.R. Osborne, and D. Zink. 2000. The role of microbiological testing in systems for assuring the safety of beef: A review. Int. J. Food Microbiol. 62:7-16.
Charlebois, R., R. Trudel, and S. Messier. 1991. Surface contamination of beef carcasses by fecal coliforms. J. Food Prot. 54:950-956.
Collins-Thompson, D. L., Aris, B, and Hurst, A. 1973. Growth enterotoxin B synthesis by Staphylococcus aureus S 6 in associative growth with Pseudomonas aeruginosa. Can J. Microbiol. 19, 1197/1201. ICMSF, 1995.
Comunidad Económica Europea (CEE) Decisión De La Comisión de 8 de junio de 2001. En línea.
Gill, C.O., M. Badoni J.C., and McGinnis. 1999 (a). Assessment of the adequacy of cleaning of equipment used for breaking beef carcasses. Int. J. Food Microbiol. 46:1-8.
Gill, C.O., L.P. Baker, and T.J. Jones. 1999 (b) . Identification of inadequately cleaned equipment used in a sheep t 1: Carcasses and contact surfaces. Meat Sci. 25:81-97.
Gill, C.O., e, and T.J. Jones. 1999 (b) . Identification of inadequately cleaned equipment used in a sheep t 1: Carcasses and contact surfaces. Meat Sci. 25:81-97.
Ingram, M., and T.A. Roberts. 1976. The microbiology of the red meat carcass and slaughterhouse. Royal Soc.Health J. 96:270-276.
ICMSF (International commission on microbiological specifications for foods). 1985. Ecología microbiana de los alimentos, Volúmenes 1 y 2. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza España. Segunda Edición
ICMSF (International commission on microbiological specifications for foods).2000. Microorganismos de los Alimentos, Volumen 1. Su significado y métodos de enumeración. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza España. Segunda Edición.
Moragas Encuentra, M; De Pablo Busto, M^a B. Enero, 2015 Normas microbiológicas de los alimentos ,Bilbao. España. En línea.
Nortjé, G.L., L. Nel, E. Jordaan, R.T. Naudé, W.H. Holzappel, and R.J. Grimbeek. 1989. A microbiological survey of fresh meat in the supermarket trade. Par Doyle, M.P. 1991. Escherichia coli O157:H7 and its significance in food. Int. J. Food Microbiol. 12:298-302.
Roberts, T.A. 1980. The effects of slaughter practices on the bacteriology of the red meat carcass. Royal Soc. Health J. 80:3-9.