

MICROORGANISMOS VIABLES ASOCIADOS A CARCASAS DE POLLOS

SORIA Claudia Cecilia*, MALANDRINI Jorge Bruno**

**Maestría en Tecnología de los Alimentos. Universidad Católica de Córdoba.*

***Cátedra de Anatomía y Fisiología Animal Comparada. Fac. Cs. de la Salud, UNCa.*

soriacc@yahoo.com.ar

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue aislar e identificar los principales géneros microbianos contaminantes de las canales de pollo destinadas a consumo. Se estudiaron 120 carcasas de pollo ingresadas al ejido municipal -para su expendio en locales comerciales- de San Fernando del Valle de Catamarca. Las mismas fueron tomadas en lotes de seis unidades cada uno, de los cuales tres pollos fueron analizados al momento de su inspección en el Frigorífico Municipal y tres en cada distinta boca de expendio. En placas de agar (PCA) se inició su desarrollo, mientras que la siembra en TSA permitió su mantenimiento con repiques diarios para luego de la coloración de Gram, (diferenciar los grampositivos de los gramnegativos y caracterizar morfológicamente) realizar otras pruebas importantes para la identificación: catalasa, oxidasa, Hugh-Leifson y fermentación de la glucosa. Se obtuvo con las pruebas bioquímicas realizadas 136 UFC. grampositivas y se identificaron, 311 gramnegativas.

PALABRAS CLAVES: Microorganismos, carcasas, pollos, aislar, identificar.

INTRODUCCION

La calidad microbiológica de los alimentos elaborados con carne de pollo depende de la carga microbiana de las canales evisceradas, del estricto mantenimiento de la cadena de frío y del nivel higiénico del establecimiento expendedor. La inspección bromatológica en planta o al momento del ingreso desde otras provincias es la forma más frecuentemente utilizada para determinar el estado sanitario. La capacidad invasiva también puede ser evaluada en el laboratorio (LASTA, 1988).

Muchas pruebas utilizadas son costosas, laboriosas y requieren una mayor tecnología; por lo tanto, su aplicación está limitada a laboratorios de determinada complejidad y no son útiles para relevamientos y testeos epidemiológicos por la gran cantidad de muestras que deben ser procesadas.

En Catamarca se investigó sobre carcasas aviares permitiendo diferenciar los géneros presentes en una planta avícola de la provincia (MALANDRINI, 2003). Por otra parte, en distintos estudios realizados sobre las características culturales y bioquímicas de bacterias en pollos, se ha informado sobre las cepas de ciertos microorganismos definidos como invasivos.

La calidad de la carne de ave, como de otros subproductos, es hoy el factor más importante que manejan los consumidores para decidir su adquisición. La carne fresca es un alimento altamente perecedero y por ello es necesario controlar su vida útil con correctos y estrictos procedimientos de inspección.

Desde el punto de vista microbiológico una propiedad interesante de la carne es que presenta gran contenido de agua, lo que permite el crecimiento de varios microorganismos, que tiene lugar fundamentalmente a expensas de sus componentes

solubles: hidratos de carbono, ácido láctico y aminoácidos. Por todo ello la carne aviar es un producto muy alterable, al crecer fácilmente en ella los microorganismos que la deterioran. Estos microorganismos al multiplicarse producen enzimas (lipasas y proteasas) que modifican la composición físico-química y producen cambios organolépticos.

La composición de esta flora microbiana es un reflejo de las distintas fuentes contaminantes y de la eficacia de las medidas higiénicas que pretenden evitar la difusión de microorganismos.

En general, la microflora es muy heterogénea, se pueden encontrar formas bacilares no esporuladas, tanto gramnegativas como grampositivas, y también formas bacilares esporuladas grampositivas (RAFA GHELLI R, 1989).

Además de los aerobios habituales de la putrefacción, se encuentran los aerobios esporulados que influyen igualmente en la conservación de la carne y tienen gran importancia porque pertenecen al grupo de los agentes albuminolíticos.

Por otra parte, se debe tener en cuenta que a la contaminación microbiana que se produce por las causas apuntadas, se agrega aquella que el personal de las pollerías incorpora en la manipulación de los productos. La forma de tratar la carne desde la faena hasta el consumo pueden hacer disminuir, mantener o incrementar el número de microorganismos presentes.

En las carnes tratadas higiénicamente, el número de microorganismos patógenos es muy pequeño, y la mayoría de las especies son saprófitas, que incluyen especies de *Aeromonas*, *Moraxella*, y *Pseudomonas*, así como varias enterobacterias. Los cocos de las carnes frescas pertenecen principalmente a los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus*.

Psicrótrofos o psicrotróficos son aquellos microorganismos de importancia en la industria alimentaria que teniendo capacidad de crecer a pocos grados centígrados, tienen una temperatura óptima típica de mesófilos (MOSEL D, 1979).

Es prácticamente imposible analizar todos los grupos de microorganismos en el laboratorio. La alteración que ocurre en las carnes crudas conservadas bajo refrigeración(5) se debe a bacterias psicrótrofas como *Pseudomonas* y deben analizarse y no *Clostridium botulinum* porque no constituye un peligro.

El recuento en placa sirve como una guía útil para las condiciones de sanitación, mantenimiento de la temperatura y del tiempo transcurrido durante la producción de alimentos y su comercialización. La presencia de gran número de psicrotróficos no necesariamente es un peligro para la salud, pero reduce la vida del producto (LIANFELICE M, 1982).

OBJETIVO

El objetivo del presente trabajo –en el marco de la tesis de maestría: “Contaminación bacteriana de carcasas de pollo”-, fue aislar e identificar los principales géneros microbianos contaminantes de las canales de pollo destinadas a consumo en San Fernando del Valle de Catamarca.

MATERIALES Y METODOS

Las visitas realizadas al Frigorífico Municipal, para la obtención de las muestras, fueron efectuadas en promedio dos veces por mes: 20 fechas en total, en días alternados de la semana y evitando casualidades o repeticiones del mismo introductor.

De la población se tomaron 120 carcasas de aves. Se muestrearon en el momento de la introducción 60 pollos en el Frigorífico Municipal donde se realiza el trámite de inspección y control de la documentación acompañante, considerándolo como momento uno. Del mismo lote, 60 carcasas se obtuvieron cinco días después, en distintas bocas de expendio. En ambos momentos se cuenta con igual cantidad de observaciones debido a que son sometidas a análisis, todas las carcasas disponibles en cada una de las fechas.

Se empleó como diluyente una solución salina peptonada estéril, que cubre bien la homogeneización transformándolas en muestras acuosas y Agar Plate Count (Agar peptona de caseína – glucosa - extracto de levaduras) -Biokar Diagnostics-, para el crecimiento de psicrótrofos, a 25 °C.

Al segundo día se controló las colonias desarrolladas en PCA y se preparó para repicar y mantener las unidades formadoras de colonias Triptona Soja Agar -Biokar Diagnostics-, Tryptone - Papaic Digest of Soybean Meal, Sodium Chloride, Agar. Se dejó solidificar en pico de flauta y se repicó.

Al cuarto día se procedió a realizar la coloración de Gram. El material se obtuvo de colonias desarrolladas en los tubos con TSA, diferenciando con esta técnica los grampositivos, de los gramnegativos y caracterizándolos morfológicamente. Paralelamente se efectuó un nuevo repique, partiendo de los tubos con TSA sembrados el día anterior.

Quinto día. Se llevó a cabo el recuento de psicrótrofos viables, asentando los valores encontrados en la correspondiente planilla y se continuó con:

Prueba de la Catalasa

Se utilizó un portaobjetos esterilizado, donde se colocó una gota de agua oxigenada de 30 volúmenes, con la ayuda del anza se tomó una colonia de los tubos con TSA previamente identificados como grampositivos y se colocó en la gota. Si se formaron burbujas (producción de gas) y quedaron de color opaco, fueron consideradas Catalasa positiva. Si no se observaron cambios, Catalasa negativa.

Prueba de la oxidasa.

Se utilizó una solución de N:N':N'- tetrametilparafenilendiamina dos HCl, trabajando sobre un papel de filtro Whatman número uno, de 10 centímetros de diámetro, el cual se dobló en ocho sectores. Se colocó una gota de la solución con una pipeta Pasteur al mismo tiempo que se extrajo una colonia gramnegativa del tubo con TSA, moviéndose en círculos pequeños. Si en cinco segundos se observaba una fuerte coloración púrpura azulada, se consideró positiva (Aeromonas). Si no hubo cambios, oxidasa negativa.

Se realizó un nuevo repique en tubos con TSA.

El sexto día se preparó el medio de **Hugh y Leifson**. (O/F glucosa, gramnegativos). Se prepararon dos tubos por cada gramnegativo. Se disolvió el medio y se lo esterilizó junto a un tubo que contenía agua destilada para la preparación de una solución de glucosa al 10 por ciento. Se dejó enfriar el agua, se agregó la glucosa, y se incorporó a la solución preparada anteriormente que se encontraba a 50 °C. Luego se distribuyó en los tubos, tres mililitros en cada uno. Cuando estuvo casi solidificado, se sembró por punción. A un tubo se le agregó una capa de parafina-vaselina (a 50 °C.), previamente esterilizada, para crear un ambiente de anaerobiosis. Se colocó en estufa durante 72 horas.

Además se realizó la prueba para la **fermentación de la glucosa**. Se preparó el medio: Triptona 10 g, Glucosa 10 g, Extracto de Levadura en polvo 1,5 g, Púrpura de Bromocresol 0,04 mg, Agar 2 gramos, en 1000 mililitros de agua destilada. Luego de la disolución, se distribuyeron nueve mililitros del medio en tubos con tapa, de 160 por 16

milímetros, y se esterilizó 20 minutos a 121 °C. Se dejó solidificar en posición vertical, obteniendo una altura del medio de no menos de ocho centímetros. Se prepararon dos tubos por cada grampositivo. Se sembró por picadura profunda, cubriendo con una capa de parafina-vaselina a uno de ellos. Se examinó el medio inoculado e incubado a 25 °C., después de 1, 3, 5, y 10 días, buscando la formación de ácido y gas, que se manifestó por un viraje al amarillo limitado a la superficie ("oxidación") o que se extendió a toda la altura del tubo ("fermentación"). Se constató si esto estuvo o no, acompañado de burbujas de gas. Se comprobó si fermentó o no, si era móvil o inmóvil, y se determinó de que microorganismo se trataba.

RESULTADOS

A todas las unidades formadoras de colonias desarrolladas en las distintas diluciones (480) se les realizó el Gram obteniéndose un valor 136 para las bacterias grampositivas y 311 para las gramnegativas.

Con las pruebas bioquímicas realizadas se halló que en general los pollos estudiados fueron más contaminados con bacterias gramnegativas. En consecuencia el 65.73 por ciento de los pollos presentaron estos géneros. Mientras que las bacterias grampositivas son el 28.33 por ciento. Ninguno de los aislamientos correspondió a levaduras y mohos.

El detalle ampliado de los resultados obtenidos por las pruebas bioquímicas se presentan en las Tabla I y II.

El tipo de microorganismos presentes en mayor cantidad corresponde al grupo de los grampositivos y la identificación de los mismos permite demostrar que esta flora proviene tanto de la piel de los animales, como del personal interviniente. Las bacterias grampositivas predominantes corresponden al género *Staphylococcus spp.*

La identificación microbiológica, demuestra que los géneros predominantes de unidades formadoras de colonias por gramo de producto (UFC/g), siguiendo el orden de importancia son *Aeromonas* y *Enterobacterias* respectivamente.

Acinetobacter es el tercer género entre los predominantes en los recuentos de gramnegativos. Mientras que *Campylobacter ssp.* fue hallado en pequeña proporción y no siempre estuvo presente. Otros potenciales microorganismos perjudiciales como *Aeromonas*, *Pseudomonas* y *Moraxella* son también identificados.

TABLA I
Porcentaje de microorganismos identificados en carcasas de pollo.
San Fernando del Valle de Catamarca. Año 2005.

MICROORGANISMO	TINCIÓN	%
<i>Staphylococcus</i>	ST C ^y	Gram positivo 20.62
<i>Acinetobacter</i>	AC*	Gram negativo 17.29
<i>Aeromonas</i>	AER ^y	Gram negativo 15.41
<i>Enterobacterias</i>	EN ^s	Gram negativo 14.58
<i>Pseudomonas</i>	PSD**	Gram negativo 9.58
<i>Micrococcus</i>	MIC	Gram positivo 7.29
<i>Campylobacter</i>	CAM ^y	Gram negativo 6.25
<i>Moraxella</i>	MO ^l	Gram negativo 1.66
<i>Baciloides</i>	BA ^{s s}	Gram positivo 0.41

Sin resultado

S/R

- - - -

6.87

TABLA II
Total de microorganismos identificados por lote en carcasas de pollo.
San Fernando del Valle de Catamarca. Año 2005.

Lote	AC*	AER ^y	BA ^s	CAM ^y	EN ¹	MIC ¹	MO**	PSD ^{yy}	STC ^y	S/R ^{ss}
1	2	2	-	7	5	-	-	1	5	2
2	6	2	-	1	1	-	5	2	-	7
3	-	5	2	4	5	2	2	2	2	-
4	1	6	-	1	14	-	-	-	2	-
5	1	4	-	7	1	1	-	7	1	2
6	-	14	-	3	7	-	-	-	-	-
7	15	3	-	-	2	-	1	-	3	-
8	1	14	-	2	2	1	-	-	4	-
9	2	5	-	1	-	2	-	1	13	-
10	-	8	-	1	1	3	-	5	6	-
11	3	4	-	-	2	2	-	-	10	3
12	-	1	-	1	-	2	-	4	9	7
13	6	-	-	1	-	-	-	-	12	5
14	3	1	-	-	16	-	-	-	4	-
15	-	2	-	-	2	2	-	3	10	5
16	1	-	-	-	5	12	-	-	6	-
17	12	-	-	-	-	4	-	8	-	-
18	12	-	-	-	-	4	-	8	-	-
19	9	4	-	1	3	-	-	5	-	2
20	-	8	-	-	4	-	-	-	12	-
Total	74	83	2	30	70	35	8	46	99	33

AC* = *Acinetobacter*AER^y = *Aeromonas*BA^s = *Bacilloacidiflo*CAM^y = *Campylobacter*EN¹ = *Enterobacterias*MIC¹ = *Micrococcus*MO** = *Moraxella*PSD^{yy} = *Pseudomonas*STC^y = *Stafilococcus*S/R^{ss} = Sin Resultado

DISCUSION

Los estafilococos muestran, con frecuencia, que hubo una contaminación procedente del personal; las cepas de origen humano aumentan si son muy manipuladas. *Staphylococcus aureus*, cocos coagulasa positiva, representan moderada peligrosidad (1). Un alto número de bacterias, como los enterococos, coliformes y *Escherichia coli* indican una higiene deficiente y, a veces, demuestran la existencia de contaminación fecal.

El número de bacterias sobre las carcasas muestreadas debe servir como monitor de las prácticas de higiene durante el proceso de comercialización. El recuento e identificación debe ser un método de rutina en los entes encargados del control bromatológico empleándolo para el estudio de las carnes, del agua, instalaciones y para el control del material de trabajo. Estas determinaciones adquieren importancia

sanitaria, ya que se constituyen en el medio que permite determinar deficiencias y aportar soluciones a favor del comercio de alimentos y del producto.

Tomando los valores obtenidos es deseable desarrollar normas microbiológicas para Catamarca y planes de muestreo para monitorear la higiene, dirigidos al personal con responsabilidad y control de producción. Para conocer el estado higiénico de los distintos sectores de los establecimientos se debería trabajar con una misma metodología y los mismos medios, obteniendo una información que se pueda comparar y eliminar así posibles diferencias debidas a estos.

El contacto entre los productos en las góndolas es permanente. Las manos de los operarios continuamente se apoyan sobre las superficies. Muchas veces no se respeta durante el expendio, el envase original, observándose que algunas veces se producen rupturas de las bolsas y el troceado de las carcasas para disimular situaciones anómalas. Al realizar la evisceración los contenidos de menudencias incluyen parte de las cabezas hecho totalmente prohibido por la legislación. Todas prácticas que deben ser erradicadas.

Si bien se puede sospechar la presencia de bacterias que causan descomposición por el resultado de las características organolépticas, por la interrupción de la cadena de frío e inclusive por la aproximación a la fecha de vencimiento, la corta vida estante de la carne aviar a nivel de los centros de venta sugiere que se comience a monitorear las condiciones microbiológicas de las carcasas a nivel planta, transporte y bocas de expendio, para determinar su estado higiénico y prevenir asociaciones de las mismas con Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs).

Si bien los pollos considerados como grupos son heterogéneos en sus propiedades bioquímicas, las pruebas utilizadas en esta investigación pueden considerarse como buenos marcadores para las bacterias encontradas. Por ello, los resultados obtenidos en las pruebas bioquímicas pueden contribuir en el diagnóstico de los pollos en relevamientos de rutina. La metodología utilizada, dado su bajo costo, sensibilidad y accesibilidad a cualquier laboratorio debería ser utilizada para los controles bromatológicos.

BIBLIOGRAFIA

1. Lasta J, Fonrouge R. Significance of samples taken from reduced areas of carcases. Journal of Food Protection, Vol. 051 : 214-217. 1988.
2. Lianfelice M, y Col. Manual de laboratorio de la industria cárnica. Procedimientos microbiológicos. INTI – CITECA, 1982.
3. Malandrini J, Pizarro C, Reccioni L, Soria C,. Microorganismos presentes en carcasas de pollo. Publicado en “El reto del desarrollo sostenible” Tomo II Segundo Congreso Iberoamericano de Ambiente y Calidad de Vida. 2003. pp 158.
4. Mossel DA, Quevedo F,. Control microbiológico de alimentos. Métodos recomendados. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Centro Latinoamericano de Enseñanza e Investigación, Perú Serie de monografías. Cleiba, 1 : 57-61, 1979.
5. Rafaghelli R, Tessi A; Masset P; Moguilevsky M. Características de la microflora psicrotrofa de canales evisceradas conservadas a 5° C. La Industria Cárnica Latinoamericana. 17 (76): 31-35., 1989.