

Aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* durante el proceso de beneficio de pollos en plantas beneficiadoras en el estado Zulia, Venezuela

Gladys Molero^{1,*}, Carmen Tarradas², Isamín Ramírez³, Fanny Gallardo⁴
y Marynés Montiel³

¹Dpto. de Sanidad Animal, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. Maracaibo, Venezuela.

²Universidad de Córdoba, España. ³Unidad de Investigaciones en Microbiología Ambiental, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

⁴Departamento Médico Quirúrgico, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Recibido: 25-01-10 Aceptado 12-04-10

Resumen

Listeria monocytogenes es considerada como un microorganismo zoonótico emergente en la industria de alimentos, resultando de gran interés para la salud pública. El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar *Listeria monocytogenes* en diferentes puntos del procesamiento de canales de pollos beneficiados procedentes de cinco plantas beneficiadoras de pollos del estado Zulia, Venezuela. La medición se efectuó mediante el método microbiológico convencional. El muestreo se basó en la NORMA COVENIN 3718.2001, obteniendo 90 muestras (15 de vísceras, 30 de agua y 45 de canales de pollo) de cinco plantas beneficiadoras, con tres replicas para cada planta. Los resultados obtenidos demuestran que el 34,4% de las muestras analizadas fueron positivas a la presencia de *Listeria monocytogenes*, no hubo una diferencia significativa entre las muestras obtenidas de agua (preenfriamiento y enfriamiento) y canales (preenfriamiento, enfriamiento y área de empaque), observándose mayor positividad en las muestras de vísceras. Se evidenció el posible riesgo en el cual se encuentra la población consumidora de pollo del estado Zulia, Venezuela y la necesidad de establecer una normativa de calidad para las canales de pollo que incluya a este microorganismo.

Palabras clave: *Listeria*, pollos, plantas beneficiadoras, Venezuela.

Isolation and identification of *Listeria monocytogenes* during chicken processing in chicken plants in Zulia state, Venezuela

Abstract

Listeria monocytogenes is considered an emerging zoonotic microorganism in the food industry, being interesting for public health. The objective of this work was to isolate and identified *Listeria monocytogenes* at different points during chicken process in five plants of Zulia

* Autor para la correspondencia: gmolero.inia.zulia@gmail.com

State, Venezuela. *L. monocytogenes* detection was done using the conventional technique. Ninety (90) samples were taken from 5 plants using the guidelines by COVENIN 3718.2001, (15 from guts 30 water and 45 chicken), having 3 replicates in each plant. Results showed a 34,4% of samples having *Listeria monocytogenes*. There were no significant differences between samples from water (prechiller and chiller) and Chicken (from chiller, prechiller and ready); highest positive samples were found in guts. There is a possible risk for chicken consumers in Zulia State, and it is important to established guidelines including this microorganism in Chicken in Venezuela.

Key words: *Listeria*, chicken, processing plant, Venezuela.

Introducción

Listeria monocytogenes es un cocobacilo Gram positivo, no esporulado, anaerobio facultativo ampliamente distribuido en el ambiente y en los alimentos (1). También se ha encontrado en plantas de beneficio de procesamiento de alimentos donde se ha convertido en un problema complejo por su persistencia en superficies, pisos y sifones (2).

En 1929, fue detectado el primer caso de listeriosis en humanos, cuyo hallazgo fue importante debido que no se pensaba, para la época, que este género fuera patógeno al humano. En la actualidad es considerado como un agente patógeno oportunista relacionado con las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), el cual también afecta a los animales (3).

Los índices de listeriosis se habían visto ensombrecidos por otros patógenos más evidentes, como *Salmonella* y *Campylobacter*. Sin embargo, los brotes vinculados a alimentos, al principio de la década de los 80, demostraron la grave naturaleza de la enfermedad, que excepcionalmente cursaba altos índices de morbilidad y mortalidad, en particular en la población más susceptible como los niños neonatos, ancianos, mujeres embarazadas y personas inmunodeprimidas (4).

En Venezuela, actualmente, la magnitud del impacto socio-económico que generan las ETAs es difícil de medir, más aún cuando muchos casos ni siquiera son informados (5).

Las diversas preferencias alimentarias, así como cambios de vida de los consumidores, han influenciado en la formulación, producción, preservación, empaque y distribución de los alimentos, originando la manufactura de alimentos prácticos o de conveniencia, frescos o mínimamente procesados que cumplan con las especificaciones de salud. Sin embargo, las buenas prácticas de manufacturas en la producción de alimentos no han dado resultados satisfactorios cuando son los mismos manipuladores, entre otras fuentes (ambiente, animal, agua, equipo, entre otros), los que contaminan el alimento durante su proceso y su elaboración (6).

Los alimentos han sido el vehículo principal de ingreso de *L. monocytogenes* al organismo, pudiendo causar una enfermedad relativamente rara, en comparación con otras enfermedades de origen alimentario; aunque la tasa de incidencia es de 4 a 8 casos por cada 1.000.000 personas, la tasa de mortalidad está entre el 20 y 30% de los pacientes hospitalizados; es una mortalidad elevada cuando se compara con otras enfermedades transmitidas por alimentos (7).

Estudios realizados acerca del aislamiento de *L. monocytogenes* en Venezuela, han reportado la presencia de este microorganismo en muestras de queso (4, 8, 9), atún (10), y vegetales mínimamente procesados (11), hasta el momento no se conocen investigaciones relacionadas con muestras obtenidas durante el procesamiento del pollo.

El objetivo de la presente investigación fue aislar e identificar *Listeria monocytogenes* en vísceras, agua de los tanques de preenfriamiento y enfriamiento y de las canales de pollos procesados en plantas beneficiadoras ubicadas en el estado Zulia, Venezuela, utilizando el método microbiológico convencional.

Materiales y métodos

Recolección de las muestras

Se recolectaron muestras, en diferentes puntos del proceso, en cinco (5) plantas beneficiadoras (A, B, C, D y E) del estado Zulia, Venezuela. Cada planta fue muestreada durante tres días (lunes, miércoles y viernes), recolectando las muestras durante las primeras horas de la mañana, de manera aleatoria y del producto del beneficio del día.

Las muestras estuvieron representadas por agua del tanque de preenfriamiento y de enfriamiento, recolectadas en envases estériles de 1L de capacidad; vísceras (contenido gastrointestinal), colocadas en bolsas con cierre hermético y muestras de canales de pollos de los tanques de preenfriamiento, enfriamiento y del área de empaque, obteniendo un total de 90 muestras (15 de vísceras, 30 de agua y 45 de canales de pollo). Todas las muestras fueron transportadas en cava con hielo hasta el laboratorio para su procesamiento inmediato.

Procesamiento de la canal

La unidad de análisis estuvo conformada por 25 g de una porción del músculo iliotibial craneal derecho e izquierdo (muslo derecho e izquierdo) y del músculo pectoral torácico derecho e izquierdo (pechuga derecha e izquierda).

Aislamiento de *Listeria monocytogenes*

El aislamiento e identificación de *Listeria monocytogenes* en las diferentes muestras se realizó según la Norma Venezolana COVENIN 3718:2001 (12). Se tomó 25

mL o g de muestra (agua, vísceras o canal), se homogeneizaron con 225 ml del medio de enriquecimiento para *Listeria* (HiMedia, India) durante 30 segundos a alta velocidad. Los homogeneizados fueron incubados a 30°C durante un periodo de 96 h tomando inóculo cada 24 h y realizando un aislamiento en agar Palcam (HiMedia, India) y agar Oxford modificado (MOX), (Oxoid, UK). Las placas fueron incubadas a 35°C-37°C \pm 1°C por 48 h. Posteriormente, se transfirieron colonias típicas de cada medio selectivo a placas Agar tripticasa soya extracto de levadura (ATSE) (HiMedia, India), y se incubaron a 35°C-37°C \pm 1°C por 24-48 h.

A partir de cultivos de 24 horas en ATSE se realizó coloración de GRAM (cocos bacilos Gram positivos), prueba de motilidad (+) y prueba de hemólisis (producción de beta-hemólisis). Posteriormente, las cepas fueron confirmadas con las pruebas bioquímicas de catalasa (+) y fermentación de maltosa (+), xilosa (-), manitol (-), esculina (+), ramnosa (+) y dextrosa (+), para complementar las pruebas propuestas por la normativa COVENIN (12), a excepción de la prueba CAMP ya que la hemólisis se mostró característica de la especie *L. monocytogenes*. Como cepa control se utilizó *Listeria monocytogenes* donada por el Centro de Referencia Bacteriología del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo.

Resultados y discusión

Se procesaron un total de 90 muestras (15 de vísceras, 30 de agua y 45 de canales de pollo) en diferentes puntos del procesamiento de las canales, en 5 plantas procesadoras. Se detectó la presencia de *Listeria monocytogenes* en el 34,4% (31/90) del total de las muestras analizadas (tabla 1). La mayor positividad se presentó en las muestras de vísceras (73,3%), lo cual pudiese estar relacionado al hecho de que *Listeria* sp. es flora normal del tracto gastrointestinal de las aves (2).

En las muestras de agua provenientes de los tanques de preenfriamiento y enfria-

Tabla 1
Detección de *L. monocytogenes* en diferentes puntos en plantas de procesamiento de canales de pollo

Planta	Vísceras	Agua preenfria- miento	Agua enfria- miento	Canal preenfria- miento	Canal enfria- miento	Canal empaques	Total (%)
A	3/3	0/3	1/3	1/3	1/3	0/3	6/18 (33,3)
B	2/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	2/18 (11,1)
C	3/3	0/3	1/3	0/3	0/3	0/3	4/18 (22,2)
D	2/3	1/3	1/3	1/3	2/3	1/3	8/18 (44,4)
E	1/3	3/3	1/3	2/3	2/3	2/3	11/18 (61,1)
Sub-Total (%)	11/15 (73,3)	4/15 (26,6)	4/15 (26,6)	4/15 (26,6)	5/15 (33,3)	3/15 (20,0)	31/90 (34,4)
Total (%)	11/15 (73,3)	8/30 (26,6)		12/45 (26,6)			31/90 (34,4)

miento el porcentaje de positividad fue del 26,6% (tabla 1). La naturaleza ubicua de *Listeria* permite contaminar las plantas donde las condiciones higiénicas no son las adecuadas logrando colonizar salas de proceso como: el preenfriamiento, enfriamiento y desprese debido a que estas operaciones se llevan a cabo en tanques y con cuchillas elaboradas con acero inoxidable, donde *Listeria* sp. puede encontrarse (13).

En los canales de pollo se encontraron valores entre 20% y 33%, siendo la canal de empaque la que presentó la positividad más baja. Reportes previos muestran porcentajes de positividad variable en muestras provenientes de pollo, reportando valores de 3% de *L. monocytogenes* en muestras de pollo crudo (14); ocho (8%) en muestras de empaquetados de pollo positivas para *L. innocua*, no encontrando *L. monocytogenes* en este tipo de muestras ni en muestras de agua potable analizadas (15) y 19,2% de *L. monocytogenes* en carcasas de pollo en Sur África (16).

La carga bacteriana en las canales frescas de ave de corral demuestran que en ellas se pueden encontrar más de 25 géneros microbianos. Particularmente, cuando las carnes se encuentran a bajas temperaturas y en condiciones aeróbicas, puede favorecerse la presencia de *Listeria* sp. por su capacidad de crecimiento a temperatura de refrigeración pudiendo llegar a multiplicarse a diferentes intervalos de pH (2).

Al comparar la presencia de *L. monocytogenes* en el proceso de producción de las canales de pollo, se evidenció una alta positividad en las muestras de vísceras comparada con los otros grupos de muestras analizadas (agua y canal de pollo) (figura 1), pudiéndose asociar la contaminación, durante el proceso, a la evisceración, lo cual puede estar relacionado con el hecho de que las máquinas de evisceración se gradúan según el peso promedio del lote a beneficiar; así como a una planificación inadecuada del ayuno vs. programación de salida de las aves a la planta beneficiadora, donde en algunos casos se observaban animales que no

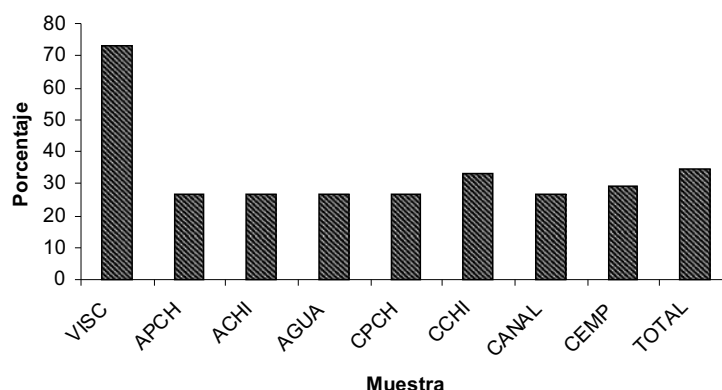


Figura 1. Porcentaje de positividad en las diferentes muestras estudiadas (Visc: vísceras, APCH: agua del tanque de preenfriamiento, ACHI: agua del tanque de enfriamiento, CPCH: canal del tanque de preenfriamiento, CCHI: canal del tanque de enfriamiento, CEMP: canal empaque).

habían cumplido con este proceso. Ambos factores inciden en un aumento del riesgo de ruptura de las vísceras y contaminación de las canales (2).

Estudios previos han demostrado que la evisceración es uno de los puntos más contaminantes seguida del lavado y preenfriamiento (17). Particularmente, los datos encontrados en esta investigación demuestran una reducción significativa en el porcentaje de muestras positivas entre las vísceras y las canales de pollo, lo cual pudiese estar relacionado con el proceso de lavado (17).

La presencia de porcentajes similares en las muestras de agua del tanque de preenfriamiento y enfriamiento y canales de pollo provenientes de estos dos ambientes (figura 1) pudiese reflejar contaminación cruzada directa entre estos dos tipos de muestras, observándose una permanencia del microorganismo en las mismas. En las plantas estudiadas, se observó que no se produce recambio del agua en el tanque de enfriamiento además que existe conexión entre las aguas de ambos tanques (pre y enfriamiento) y que las canales caen al tanque de enfriamiento a través de una cinta transportadora, existiendo un riesgo de producirse una contaminación cruzada de tipo directo. Reportes previos han demostrado que los tanques de inmersión son puntos críticos

del procesamiento para la calidad microbológica del producto final, debido al riesgo de contaminación cruzada de las canales durante su permanencia (17).

La presencia de *Listeria* sp. puede estar asociada a deficiencias en los sistemas de tecnología de limpieza en las plantas de beneficio y/o contaminación con utensilios durante el desprese, debido que esta posee la capacidad de formar fácilmente biopelículas, convirtiéndose en focos potenciales de diseminación dentro de las plantas (2, 18). Estudios previos han demostrado que la mejora en las prácticas sanitarias en las superficies que están en contacto con el producto y durante el procesamiento del mismo, reduce el riesgo de *Listeria* sp. (19).

El nivel de *L. monocytogenes* tolerado en canales de pollo en diferentes países es muy variable, va desde cero en 25 g en Estados Unidos, hasta permitir la presencia de 100 UFC/g en algunos países de la Unión Europea (20). Actualmente la tendencia está dirigida más hacia el control de los niveles de este patógeno que a la eliminación total del mismo. La normativa para pollo beneficiado en Venezuela no establece reglamentación con respecto a este microorganismo (21) por lo que se hace necesario establecer legislaciones, especialmente si se desea participar en el comercio internacional (4).

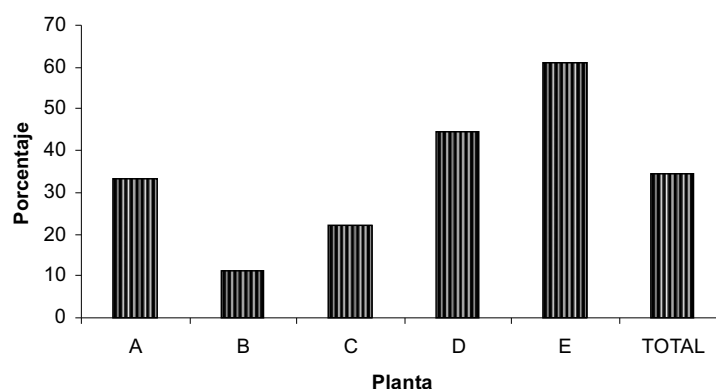


Figura 2. Porcentaje de muestras positivas por planta.

Al evaluar el total de muestras procesadas por planta, se encontró porcentajes de positividad entre 11,1 y 61,1 % (tabla 1) correspondiendo el porcentaje más elevado a la planta E, seguido por la planta D (figura 2). Este alto porcentaje pudiese estar orientado al tipo de manejo durante el proceso de beneficio, donde el agua del tanque del preenfriamiento presenta, en las plantas con mayor positividad, temperaturas superiores a las permitidas (16°C) (2).

Rojas y González (2006), señalan el riesgo de infecciones por patógenos, por lo que se necesita un control microbiológico estricto en la cadena de producción de alimentos (22).

Agradecimiento

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES-LUZ), quien financió el presente estudio a través del proyecto CC-338-07.

Conclusiones

Se detectó *Listeria monocytogenes* en muestras de vísceras (73,3%), agua (26,6%) y canales de pollo (26,6%) en plantas procesadoras ubicadas en Maracaibo, estado Zulia, Venezuela.

El proceso de evisceración se presenta como un punto crítico necesario a ser controlado en todas las plantas estudiadas.

Se requiere el establecimiento de normativas en Venezuela que permitan determinar valores aceptables de *Listeria* en muestras de pollo.

Referencias bibliográficas

1. DONGYOU L. *J Med Microbiol* 55:645-659. 2006.
2. PEREZ C., MERCADO M., CARRASCAL A. *NOVA* 6(10): 141-146. 2008.
3. RIVERA F., WESLEY I., HURD S., SIMOES D., SOSA A., RIVERA S. *Rev Cientif FCV-LUZ* 16(3): 297-307. 2006.
4. VILLALOBOS L., MARTINEZ R. *Rev Cientif FCV-LUZ* 17(5): 529-536. 2007.
5. DEPARTAMENTO DE EPIDEMIOLOGÍA DEL ESTADO ZULIA VENEZUELA. Informe anual. 2007.
6. MINISTERIO DE SALUD. DEPARTAMENTO DE HIGIENE DE LOS ALIMENTOS DEL ESTADO ZULIA. Reportes Situación Actual sobre las Plantas Beneficiadoras de Aves. Maracaibo (Venezuela). 2006.
7. TORRES K., POUTOU R., CARRASCAL A., SIERRA S., MERCADO M. *Rev MVZ Cord* 9(2): 414-427. 2004.
8. CARRRILLO L., ZAMBRANO M. *Rev Cientif UNET* 18(1). 8-15. 2006.
9. CITTI R., SCARAMELLI A., GONZALEZ I. *Rev Cientif FCV-LUZ* 40(2):101-110. 1999.

10. MARTINEZ R., VILLALOBOS L. **Rev Cientif FCV-LUZ** 14(4): 354-357. 2004.
11. http://www.alanrevista.org/ediciones/2002-3/listeria_monocytogenes_vegetales_minimamente_procesados.asp. Fecha de consulta: 20/12/09.
12. FONDONORMA. NORMA VENEZOLANA COVENIN 3718: 2001. 2001.
13. PEREZ-RUBIANO C., MERCADO-REYES M., CARRASCAL-CAMACHO A. **NOVA** 6(10): 141-145. 2008.
14. CANTU R., AVILA S., SIERRA G., CRUZ W., RIVERA G., BOCANEGRA V. **Bioquimia** 32(Supl 1): 115. 2007.
15. SANCHEZ F., MATA V., ESPINOZA A., VILLAREAL L. **Ciencia UANL** 9(1): 51-56. 2006.
16. VAN NIEROP W., DUSE A., MARAIS E., AITHMA N., THORHOBOLO N., KASSEL M., STEWART R., POTGIETER A., FERNANDEZ B., GALPIN J., BLOOMFIELD S. **Int J Food Microbiol** 99(1): 1-6. 2004.
17. VALERA M., FERRER O., HUERTA N., ESPARZA D. **Rev Cientif FCV-LUZ** 7(3): 205-208. 1997.
18. LIN C., TAKEUCHI K., ZHANG L., DOHM C., MEYER J., HALL P., DOYLE M. **J Food Protect** 69(1): 71-79. 2006.
19. GIBBONS I., ADESIYUN A., SEEPERSADSINGH N., RAHAMAN S. **Food Microbiol** 23(4): 359-366. 2005.
20. ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN. 20-27. 2000.
21. FONDONORMA. NORMA VENEZOLANA COVENIN 67.120.10. 1986.
22. ROJAS R., GONZALEZ T. **Bioquimia** 31(2): 69-76. 2006.