

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



MAESTRIA EN MICROBIOLOGÍA E INOCUIDAD DE ALIMENTOS

DETERMINACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN DE *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*
Y *Salmonella sp.* EN CARNE DE CERDO Y BOVINO EN LA SALA DE MATANZA DE
SANTA ANA

TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR AL GRADO DE
MAESTRA EN MICROBIOLOGIA E INOCUIDAD DE ALIMENTOS

PRESENTADO POR:

LICDA. ROSY FRANCIS ALVARENGA ARTIGA
LICDA. KAREN PATRICIA RODRÍGUEZ DE ALVAREZ

ABRIL 2018

SAN SALVADOR, EL SALVADOR CENTROAMÉRICA

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIA GENERAL

LIC. CRISTOBAL HERNÁN RIOS BENITEZ

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO ARÉVALO

SECRETARIO

MAESTRO ROBERTO EDUARDO GARCÍA ERAZO

COMITÉ DE TESIS

MSc. Coralia de los Ángeles González
Asesora

MSc. María Evelyn Sánchez de Ramos
Jurado Evaluador

MSc. Andrés Wilfredo Rivas Flores
Jurado Evaluador

COORDINACION DEL PROGRAMA DE POSGRADO

MSc. Edith Alicia Torres de Cantón
Jefa de Posgrado de la Facultad de Química y Farmacia.

MSc. Coralia de los Ángeles González
Coordinadora de Maestría

Licda. Rosy Francis Alvarenga
Licda. Karen Patricia Rodríguez de Álvarez
Estudiantes

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la Universidad de El Salvador por brindarnos la oportunidad de seguir formándonos profesionalmente.

Al rastro municipal de Santa Ana por permitirnos hacer nuestro trabajo de investigación en sus instalaciones.

A laboratorio de Alimentos del Centro de Investigaciones y Desarrollo en Salud (CENSALUD) por permitirnos el uso de sus instalaciones para el procesamiento de las muestras de nuestra investigación.

A 3M® El Salvador por apoyarnos con Placas Petrifil para recuento de *Escherichia coli*/Coliformes y *Listeria monocytogenes* en ambiente (EL).

A laboratorio Forrajes Salvadoreños por su apoyo en permitirnos el uso de sus instalaciones para el procesamiento de las muestras de nuestra investigación.

A nuestros maestros que a lo largo de este camino nos apoyaron y enseñaron muchos conocimientos.

Francis Alvarenga y Karen Rodríguez

DEDICATORIA

A Dios por ser tan bueno conmigo que sin merecerlo me permite seguir cosechando triunfos en mi vida profesional.

A mis padres que sin el apoyo de ellos a lo largo de mi vida nada de lo que tengo hubiera sido posible.

A mis hermanos y sobrinos que siempre me han inspirado para seguir adelante.

A mis amigos que siempre hacen este camino más fácil, divertido y me empujan a seguir adelante.

A mi compañera de tesis por acompañarme en este camino de alegrías, tristezas y frustraciones, pero a pesar de todo fue un bonito camino que al fin hemos culminado juntas.

A la Facultad de Ciencias Agronómicas por darme la oportunidad de seguirme formando profesionalmente.

Francis Alvarenga

DEDICATORIA

A Dios por darme la sabiduría para finalizar este proyecto, por estar a mi lado en cada paso en la trayectoria de mi estudio y por su infinito amor.

A mis padres por ser pilares fundamentales en mi vida, por su apoyo y por siempre darme ánimos para continuar.

A mi esposo por estar siempre a mi lado, apoyarme en cada momento de mi estudio y darme ánimos para seguir siempre adelante.

A mis Hermanas por ser parte importante en mi vida, y apoyarme en cada momento.

A mi hija, por ser el motor de todos los días para ser mejor persona.

A mi compañera de tesis por compartir conmigo este proyecto, por todos los momentos vividos, por el apoyo para poder finalizar.

Karen Rodríguez de Álvarez

INDICE

Contenido	Pag N°
Resumen	
1.0 Introduccion	XVI
2.0 Objetivos	19
2.1 Objetivo general	19
2.2 Objetivos especificos	19
3.0 Marco Teorico	21
3.1 Rastros en El Salvador	21
3.2 Rastro de Santa Ana	22
3.3 Lineamientos para el diseño de rastros o mataderos	23
3.3.1 Diseños de rastros o mataderos	23
3.3.2 Capacidad instalada	23
3.3.3 Ubicación y entorno del rastro o matadero	23
3.3.4 Condiciones de diseño	24
3.3.5 Descarga y recepción de animales	25
3.3.6 Corrales	26
3.3.7 Baño de asperción antes del sacrificio	27
3.3.8 Caracteristicas del pasillo	28
3.3.9 Filtro de desinfección	28
3.3.10 Cajon de aturdimiento	29
3.3.11 Condiciones de diseño de la playa de faena	30
3.3.12 Área de sacrificio	30

3.3.13 Capacidad de sacrificios	30
3.3.14 Diseño de la faena	30
3.3.15 Tecles y sistema de rieles	31
3.3.16 Características de diseño del área de faenado	32
3.3.17 Iluminación	32
3.3.18 Ventilación	33
3.3.19 Agua potable	33
3.3.20 División de la playa de faena	33
3.3.21 Local de inspección	34
3.3.22 Material, equipo	34
3.3.23 Área para el tratamiento de cueros	36
3.3.24 Lavado y desinfección de vehículos	36
3.3.25 Manejo de decomiso	36
3.4 Carne cruda de abasto	37
3.4.1 Propiedades de la carne y productos cárnicos	38
3.5 Enfermedades transmitidas por alimentos	39
3.6 Género Listeria	40
3.6.1 Listeriosis	41
3.6.2 Presentación de la enfermedad en el hombre	41
3.6.3 Diagnóstico	42
3.7 Género Escherichia	42
3.7.1 Colibacilosis	43

3.7.2	Presentación de la enfermedad en el hombre	44
3.7.3	Diagnóstico	44
3.8	Género Salmonella	45
3.8.1	Salmonelosis	45
3.8.2	Salmonelosis en el hombre	46
3.8.3	Diagnóstico	47
4.0	Metodología	49
4.1	Metodología de campo	49
4.2	Universo muestral	49
4.3	Recolección de muestras	50
4.4	Identificación de <i>L.monocytogenes</i> en utensilios, mesa multi uso y pared de las instalaciones de la sala de matanza	51
4.5	Metodología de laboratorio	52
4.5.1	Aislamiento e indentificación de <i>Listeria monocytogenes</i>	52
4.5.2	Pre enriquecimiento y enriquecimiento	52
4.5.3	Aislamiento	52
4.5.4	Selección de colonias sospechosas	52
4.5.5	Pruebas bioquimicas	53
4.5.6	Prueba de CAMP	53
4.5.7	Microgen Listeria – ID	55
4.5.8	Expresión de resultados	55

4.6 Identificación de <i>L.monocytogenes</i> en utensilios, mesa multi usos y pared de las instalaciones de la sala de matanza	55
4.6.1 Preparación de la muestra	55
4.6.2 Inoculación	56
4.6.3 Incubación	56
4.6.4 Interpretación	56
4.7 Determinacion de <i>Escherichia coli</i> por conteo en placa petrifilm	56
4.7.1 Inoculación	57
4.7.2 Interpretación	57
4.8 Aislamiento e identificación de Salmonella sp.	57
4.8.1 Pruebas bioquimicas preliminares	59
4.8.2 Pruebas bioquimicas complementarias	60
4.9 Metodología estadística	61
5.0 Discusión de resultados	63
6.0 Conclusiones	96
7.0 Recomendaciones	98
Referencias bibliograficas	
Anexos	

INDICE DE CUADROS

CUADRO No.	Pag. N°
1. Descripción de áreas en la playa de la faena.	34
2. Bacterias patógenas aisladas de cárnicos.	39
3. Diferenciación de especies de <i>Listeria</i> .	54
4. Prueba hemolítica CAMP para diferentes especies de <i>Listeria</i>	54
5. Resumen de resultados obtenidos respecto a la contaminación en la carne de cerdo con las bacterias <i>L.monocytogenes</i> , <i>Salmonella sp</i> y <i>E.coli</i> .	68
6. Resumen de resultados obtenidos respecto a la contaminación de la carne de bovino con las bacterias <i>L.monocytogenes</i> , <i>Salmonella sp</i> y <i>E.coli</i> .	72
7. Resultados de <i>L. monocytogenes</i> es utensilios, mesa multi usos y pared utilizados en la sala de matanza de Santa Ana.	76

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°.		Pag. N°
1.	Volumen de sacrificio por departamento	22
2.	Rampa para el traslado de los animales	26
3.	Corral de recepcion.	27
4.	Baños por aspersión utilizados para los animales.	28
5.	Pasillo con paredes altas que evitan la visibilidad.	28
6.	Animales suspendidos por rieles.	29
7.	Esterilizadores para equipo al momento del faenado.	31
8.	Digestores apropiados para los decomisos.	37
9.	Recolección de muestra de bovino.	50
10.	Recolección de muestra de cerdo.	51
11.	Resultados de la presencia y ausencia de <i>L.monocytogenes</i> en carne de cerdo.	69
12.	Resultados de la presencia de <i>Salmonella sp</i> en carne de cerdo.	70
13.	Resultados de unidades formadoras de colonia por gramo de <i>E.coli</i> en de cerdo.	71
14.	Resultados de la presencia y ausencia de <i>L.monocytogenes</i> en carne de bovino.	73
15.	Resultados de la presencia de <i>Salmonella sp</i> en carne de bovino.	74

16. Resultados de unidades formadoras de colonia por gramo de *E.coli* en 75 carne de bovino.

INDICE DE ANEXOS

ANEXO No.

1. Enriquecimiento y aislamiento de *Listeria monocytogenes* en carne de cerdo y bovino.
2. Pruebas bioquímicas para el diagnóstico de *Listeria monocytogenes* en carne de cerdo y bovino
3. Preparación de muestras para aislamiento de *L. monocytogenes* en utensilios de uso en el rastro
4. Preparación de muestras para aislamiento *Escherichia coli* en carne de cerdo y bovino
5. Preparación de muestras para aislamiento *Salmonella sp* en carne de cerdo y bovino
6. Colonias típicas de *Salmonella sp* en medios sólidos selectivos
7. Reacciones bioquímicas de *Salmonella sp*.
8. Límites permitidos Reglamento Técnico Centro Americano 67.04.50:08

RESUMEN

La investigación se realizó en el Departamento de Santa Ana, en el período de agosto 2015 a enero 2016; meses durante los cuales se recolectaron 20 muestras de carne bovinos y 20 de cerdos para la determinación de la contaminación *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*.

Los microorganismos patógenos que históricamente se han asociado a brotes por el consumo de carne, incluyen *Salmonella*, *Escherichia coli* y *L.monocytognes*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens* y *Yersinia sp*, aunque los primeros tres se ha reportado que actualmente son los más importantes como patógenos en carne de res; *L. monocytogenes* se ha reportado como un microorganismo persistente en rastros y plantas procesadoras de alimentos, siendo esto la mayor fuente de contaminación para el producto. (8).

Los resultados del estudio indican que los cuchillos, paños, aire y manos pueden actuar como vehículos de contaminación. Así como también la ropa de trabajo que utilizan los operadores, y el uso de los mismos utensilios para todos los animales sin que estos tengan un proceso de desinfección adecuado, contribuye a la contaminación de la carne con *Salmonella*, *Escherichia coli* y *L.monocytogenes* y otras bacterias de importancia en salud pública. (9).

Se realizaron tres visitas en la sala de matanza en las que se verifico el proceso de sacrificio y faenado de las especies en estudio. Se verifico el grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias al momento del sacrificio. Se realizó una entrevista con el gerente de la Sala de Matanza, en la cual se le solicitaron todos los registros, de igual manera al personal que labora en el rastro para verificar las Buenas Prácticas dentro de los procesos en la sala de matanza, con toda la información recolectada se elaboró guía de Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias.

Se realizaron dos muestreos, la carne de cerdo se tomó en horas tempranas de la mañana ya que eran los primeros animales en ser sacrificados. El segundo muestreo se hizo en el mismo día cuando se iniciaba el sacrificio de los bovinos, posteriormente se llevaron las muestras al Laboratorio de Alimentos del Centro de Investigación y

Desarrollo en Salud (CENSALUD) para su procesamiento se siguieron metodologías establecidas por el Manual Analítico Bacteriológico (BAM) y la Asociación Oficial de Químicos Agrícolas (AOAC) y se compararon los resultados con el Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08 Alimentos, Grupo N° 8 Carnes y Productos Cárnicos.

Se monitorearon utensilios utilizados para el proceso de sacrificio cuales fueron cuchillos, ganchos, tabla de corte de piezas, y otros puntos como mesa multi uso y pared de la sala de matanza con el fin de identificar *Listeria monocytogenes*, obteniendo ausencia de la bacteria en cada uno de los utensilios y puntos.

Posteriormente se procesó la información obtenida, haciendo uso de estadística descriptiva y a partir del procesamiento de esta información se obtuvo los resultados definitivos de la investigación.

En relación a la hipótesis planteada al inicio de la investigación se afirma que hay contaminación en la carne de cerdo y bovino de las tres bacterias determinadas, teniendo el mayor porcentaje de contaminación para *L. monocytogenes* y *Salmonella sp* en carne de bovino y *Escherichia coli* en carne de cerdo, ambas carnes indican la presencia de *Escherichia coli* a altos niveles de UFC/g.

CAPITULO I
INTRODUCCIÓN

1.0 Introducción

La inocuidad de los alimentos es la garantía de que no causará daño al consumidor, cuando sea preparado o ingerido y de acuerdo con el uso a que se destine. Los alimentos son la fuente principal de exposición a agentes patógenos, tanto químicos como biológicos (virus, parásitos y bacterias), a los cuales nadie es inmune, ni en países en desarrollo ni desarrollados. Cuando los alimentos se contaminan en niveles inadmisibles de agentes patógenos y contaminantes químicos, o con otras características peligrosas, conllevan riesgos sustanciales para la salud de los consumidores, y representan grandes cargas económicas para las diversas comunidades y naciones ⁽²⁴⁾.

Esta investigación tuvo como objetivo determinar la contaminación de *L. monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp* en carne de cerdo y bovino en la sala de matanza de Santa Ana. Muchos brotes en diferentes países han estado relacionadas con estas bacterias que contaminan la carne, por lo cual se desarrolló la investigación en la sala de matanza de Santa Ana, en el periodo de agosto de 2015 a enero de 2016, realizando 3 visitas en las que se verifico el proceso de sacrificio y faenado de las especies en estudio, de igual manera se verifico la aplicación de las Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias y entrevistas a personal que labora en el rastro, con la información anterior se elaboró la Guía de Buena Practicas de Faena e Higiénico Sanitarias; así mismo se tomaron 20 muestras de carne de cerdo y bovino, también se monitorearon 5 áreas para identificar la presencia de *L. monocytogenes* en utensilios que se utilizan en el proceso de sacrificio para identificar la presencia de *L. monocytogenes*, determinando que esta no es fuente de contaminación de la carne.

Las muestras de carne de cerdo y bovino fueron procesadas según Metodología establecidas por el Manual Analítico Bacteriológico BAM y la Asociación Oficial de Químicos Agrícolas AOAC, en el Laboratorio de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD).

Demostrando la contaminación de las bacterias *L. monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp* en carne de cerdo y bovino.

Al analizar 20 muestras de carne de bovino y la misma cantidad en carne de cerdo, esto reflejo que la carne de bovino presento una mayor contaminación a *L.monocytognes*, *Salmonella sp* y la carne de cerdo presento una mayor contaminación a la bacteria *Escherichia coli*.

Los resultados obtenidos no cumplen con los criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos establecidos por el RTCA 67.04.50:08 Alimentos, donde especifica la ausencia en 25g de muestra para *L. monocytogenes* y *Salmonella sp* y 10 UFC/gr máximo para *Escherichia coli* ⁽²⁵⁾.

Por lo que se afirma la Importancia de implementar Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias al momento del sacrificio de cualquier especie animal, para evitar las enfermedades transmitidas por alimentos.

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la contaminación de *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp* en carne de cerdo y bovino en la sala de matanza de Santa Ana.

2.2OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1** Determinar cuál de los dos tipos de carne tiene mayor fuente de contaminación.
- 2.2.2** Identificar *L. monocytogenes* en los utensilios utilizados en el proceso de sacrificio de los animales, así como también en mesa multi uso y pared.
- 2.2.3** Comparar los resultados con el Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08 Alimentos, Grupo N° 8 Carnes y Productos Cárnicos.
- 2.2.4** Elaborar guía de Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias para presentarla, a la sala de matanza de Santa Ana.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Rastros en El Salvador

Se entiende por Rastro las instalaciones físicas propiedad del municipio, que se destina al sacrificio de animales que posteriormente será consumido por la población como alimento. Cuenta con personal, equipo y herramientas necesarias para su operación y comprende las áreas destinadas a los corrales de desembarque y de depósito, así como a la matanza. Según la Ley de Inspección Sanitaria de la Carne en su Capítulo I. Objetos y Definiciones, clasifican los Rastros o Mataderos de la siguiente manera: Matadero Público. Es el que funciona bajo la dependencia del Municipio o de Sociedades de economía mixta. b) Matadero Privado con fines industriales. Es el que funciona como empresa de propiedad privada.

La carne de res y porcina que llega a la mesa de los salvadoreños, lo hacen, sin un estricto control sanitario; debido a que los bovino y cerdos se destazan en lugares no higiénicos y con procesos rudimentarios y artesanales. ⁽¹⁾

En el país, el número de rastros municipales registrados por las autoridades del Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN) es de 52. De esta cifra, solo uno es el que opera de forma legal y llena todos los estándares de salubridad exigidos. El resto trabaja a la vista de las autoridades de salud, medioambientales, así como las de agricultura y ganadería. En estos rastros municipales podrían destazarse animales de dudosa procedencia (robados), como también sacrificar reses o cerdos enfermos y hasta caballos. Algunos operan en la clandestinidad por no tener los respectivos permisos, pero a la vista de todas las autoridades relacionadas con el tema.

A este número de establecimientos ilegales donde se matan y se descuartizan reses, hay que sumar todas las viviendas donde operan destazadores autorizados por gobernadores y alcaldes municipales. Nadie tiene un control real de lo que ahí pasa y en qué condiciones de salubridad se trabaja.

Actualmente a nivel nacional se tiene un volumen de 2,913 sacrificios de ganado bovino y 1,615 sacrificios de ganado porcino por semana (MARN). Después de San Salvador, los depto. con mayor volumen de matanza son: San Miguel (332), Santa Ana (289), Sonsonate (215), La Libertad (201) Ahuachapán (186) (Figura. N° 1) ⁽²⁰⁾

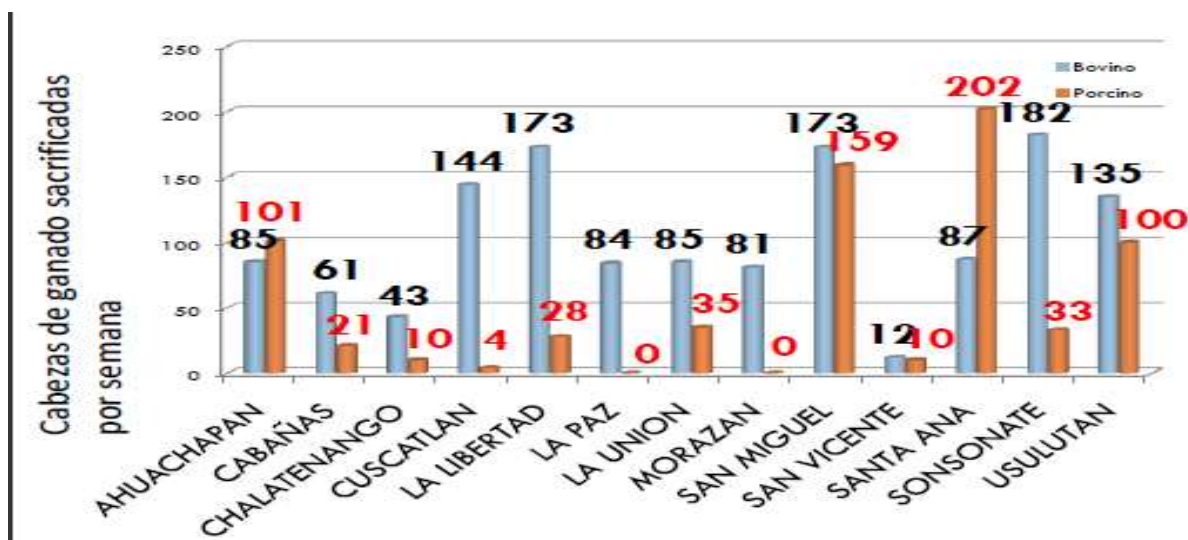


Figura N°1 Volumen de sacrificio por departamento (bovinos y porcinos por semana). ⁽¹⁹⁾

3.2 Rastro de Santa Ana

Actualmente el rastro de Santa Ana sacrifica unas 30 reses a diario, no tiene las condiciones para funcionar, y la comuna, según el alcalde, no posee los recursos económicos para convertirlo en un rastro con estándares de calidad y salubridad.

El rastro municipal está ubicado al lado del Turicentro Sihuatehuacán, al final de la calle Libertad oriente, donde las reses que serán sacrificadas permanecen en medio de lodazales durante la época lluviosa.

El matadero no posee cuarto refrigerante para guardar la carne de los animales que son sacrificados en el lugar. Tampoco que las aguas residuales tratadas antes de lanzarlas al sistema de drenajes.

El rastro realiza un cobro de \$7.98 por res sacrificada, mientras que por el ganado porcino cobra \$3.43, un precio que para el alcalde es muy bajo y no justifica el servicio prestado, En el rastro laboran 28 trabajadores municipales ⁽⁴⁾.

3.3 Lineamientos para diseño de rastros o mataderos

3.3.1 Diseño de rastros o mataderos

Para el diseño de rastros o mataderos se debe contar con un sistema que garantice las condiciones higiénico sanitaria a lo largo de todas sus actividades a fin de controlar agentes físicos, químicos y biológicos que puedan contaminar los productos y subproductos cárnicos, ya sea por la manipulación del personal operario, instalaciones o del medio ambiente.

El diseño del matadero debe satisfacer esta exigencia a efecto de lograr una buena calidad e inocuidad de la carne y los subproductos con el objetivo de proteger la salud de la población.

Las zonas o áreas deben encontrarse claramente identificadas en cuanto a accesos, circulación, servicios, seguridad, entre otros.

3.3.2 Capacidad instalada

Los rastros o mataderos deben disponer del espacio necesario para la ejecución satisfactoria de todas las operaciones, con zonas y secciones específicas diseñadas en proporción a la cantidad de especies de animales a faenar. Con esta medida se busca que ningún establecimiento pueda exceder del faenado de animales sobre la capacidad de sus instalaciones y equipos utilizados.

3.3.3 Ubicación y entorno del rastro o matadero

El terreno debe estar ubicado a una distancia no menor de 500 metros del límite urbano actual, de viviendas, lotificaciones o desarrollo poblacional, con previa autorización o calificación del lugar otorgada por la autoridad competente.

No se podrá construir proyectos de rastros o mataderos en lotificaciones autorizadas o en desarrollo. Distancia mínima de cuerpos de agua (río o quebrada), se deberá considerar la zona de protección de 25 metros según el Art. 23 de la Ley Forestal).

Condiciones del terreno: topografía plana o semi plana, compacto, no susceptibles a inundaciones y deslizamientos.

De acuerdo a la normativa del Ministerio de Salud (MINSAL), no debe considerar el tiangué aledaño al rastro o matadero.

Área del terreno: 2 a 3 manzanas como mínimo o según la cantidad de ganado a sacrificar.

Dentro del área del rastro o matadero, no debe existir otra construcción, industria o viviendas ajenas a la actividad del establecimiento.

Todo el perímetro del matadero, incluyendo los corrales e instalaciones anexas, debe estar circundado por un muro perimetral construido con material resistente permanente, con una altura mínima de 1.50 metros, que impida el ingreso de animales y personas ajenas a la actividad.

3.3.4 Condiciones de diseño

Todo rastro o matadero deberá de contar al menos con las siguientes dependencias:

1. Área de recepción e inspección ante mortem y post mortem
2. Área de faenado
3. Área de depósito de productos no comestibles
4. Cámara de almacenamiento para producto fresco y congelado
5. Zona de embargue
6. Zona de desechos sólidos
7. Área del sistema de tratamiento de aguas residuales

8. Área de servicios sanitarios para el personal operario
9. Área de maniobras para vehículos
10. Área de lavado y desinfección de vehículos
11. Área para el tratamiento de cueros
12. Área de taller y mantenimiento de equipo
13. Oficinas administrativas
14. Bodega

3.3.5 Descarga y recepción de animales

Considerar un área adecuada de descarga de animales, que comunique directamente con el corral de recepción. A la llegada de los animales, se debe de disponer de una rampa de descarga, la cual debe ser construida con paredes y con un desnivel máximo de la rampa del 25%.

Características que debe tener la rampa de descarga:

1. Paredes ciegas, sin aristas salientes ni punzantes
2. Segura para el descenso de los animales
3. De fácil limpieza
4. Pisos antideslizantes e impermeables
5. No debe tener aberturas en las que se pueda lastimar el animal

Debe de ubicarse al interior del establecimiento y no forma parte del cerco perimetral. (Figura N° 2).



Figura N° 2 Rampa para el traslado de los animales ⁽²⁰⁾.

3.3.6 Corrales

Los corrales deben estar localizados a distancia adecuada de la sala de faenado y en condiciones que el viento predominante no traslade olores, polvo o emanaciones a las salas de faena.

Los tubos de los corrales deben tener la altura que garantice el aislamiento de los animales y ser construidos con material no corrosivo resistente, de fácil limpieza; sin aristas o prominencias que puedan causar daño a los animales.

Los pisos de los corrales deben ser de material sólido, antideslizante, sin salientes y con una pendiente mínima de 2% orientada hacia los sumideros o canaletas de desagüe del corral.

Los corrales deben contar con techo a una altura mínima de tres metros, a fin de proveer un área cubierta adecuada para proteger a los animales contra el exceso de los rayos solares. El área cubierta debe corresponder al 25% del total del área del corral.

Todos los corrales deben de disponer de bebederos de material no corrosivo, con los bordes redondeados, deben ser lavables y desinfectables.

Los corrales deben estar divididos para cada especie (bovinos, porcinos) y en función a la capacidad de faenado de animales.

La capacidad de los corrales deberá calcularse con base a: 2.5 m² por cada bovino y 1.25 m² por cada porcino.

Las canaletas de desagüe de los corrales deben estar ubicadas en su parte externa, es decir, por fuera del cerco del corral.

El rastro debe de contar por lo menos con tres corrales que se utilizarán para diferentes funciones, deberán tener corral de recepción, corral de descanso y corral de sospechosos o aislamiento. (Figura N° 3)



Figura N° 3 Corral de recepción. Notese el techo y el tipo de piso adecuado ⁽²⁰⁾

3.3.7 Baño de aspersión antes del sacrificio

Una vez que el animal ha sido habilitado para el sacrificio (evaluación ante mortem), y antes del ingreso al área de aturdimiento, debe haber una manga para la limpieza y lavado del animal, mediante un sistema de aspersión o presión dorsal, lateral ventral. Los animales deben someterse a un baño de aspersión antes de entrar al área de sacrificio.

El piso del baño debe ser de construcción impermeable y antideslizante de 5 metros de largo por 70 de ancho para bovinos. El sistema debe asegurar la eliminación de la tierra, estiércol o cualquier otro contaminante que el animal tenga sobre la piel.

Si la ducha por aspersión no garantiza la limpieza total del animal, se debe utilizar un sistema manual que asegure la limpieza total del animal. (Figura N°4)



Figura N° 4 Baños por aspersión utilizados para los animales. (20)

3.3.8 Características del pasillo

La manga debe ser curva para que no se afecte el libre tránsito del animal hacia la cámara de aturdimiento, construida con dimensiones de 85 cms de ancho y entre 1,80 a 2 metros de altura para bovinos (Figura N°5). En el caso de porcinos debe construirse de 50 cms de ancho y 1 metro de altura. Debe estar provista de duchas de aspersión para el baño del animal previo al aturdimiento.



Figura N° 5 Pasillo con paredes altas que evitan la visibilidad. (20)

3.3.9 Filtro de desinfección (limpieza de botas y lavamanos)

En la entrada del área de faenado se debe contar con pediluvios, área para lavado y desinfección de botas, lavamanos de acción no manual (de sensores, de presión

o de rodilla), provistos de jabón líquido neutro e inodoro, papel toalla o secadores de aire. Este equipamiento debe estar ubicado previo al ingreso a las salas de trabajo. El procedimiento de limpieza debe repetirse de igual manera a la salida de las salas.

3.3.10 Cajón de aturdimiento

Todo establecimiento que se dedique al sacrificio de animales de abasto deberá contar con un área de insensibilización. El aturdimiento de los animales debe realizarse sobre la base de métodos que atenúen su sufrimiento, por ello este debe ser con procedimiento humanitario (pistola de embolo cautivo, shock eléctrico).

El corredor de acceso, entre la manga de baño y el cajón de aturdimiento, debe tener una longitud suficiente para que escurra el agua de lavado. La puerta de acceso al cajón de aturdimiento debe ser de guillotina.

El cajón de aturdimiento debe estar construido con material sólido y resistente, de preferencia, metálico y superficie lisa. Debe contar con dispositivo para suspender a los animales y situarlos en el sistema de rieles. (Figura N°6)



Figura N° 6 Animales suspendidos por rieles ⁽²⁰⁾.

3.3.11 Condiciones de diseño de la playa de faena

Los rastros o mataderos deben de contar con zonas de faenado que permitan un flujo continuo y la separación de la zona limpia, intermedia y sucia.

3.3.12 Área de sacrificio

En el caso de sacrificio de bovinos, el piso frente al cajón de insensibilización debe tener un flujo continuo de agua, con drenaje de 15 cm de diámetro como mínimo para recibir el agua y desechos.

El piso será impermeable, antideslizante, sin baches para evitar el estancamiento de líquidos y con una pendiente del 2% hacia los drenajes.

3.3.13 Capacidad de sacrificios

La capacidad máxima de sacrificio dependerá de:

- Las dimensiones del establecimiento
- La disposición de las líneas de transportación
- La capacidad del establecimiento para presentar las canales, sus vísceras y partes que permita una inspección eficiente y completa.
- Los planos o especificaciones deberán indicar la capacidad máxima de sacrificio propuesta.
- Capacidad de tratamiento de residuos sólidos y líquidos (vertidos)

3.3.14 Diseño de la faena

Faenado de diferentes especies: El matadero donde se faene diferentes especies debe contar con zonas de faena separadas para cada especie o procedimientos específicos autorizados por la autoridad competente sobre horarios, higiene y sanidad cuando se utilice un área en común.

La zona de faenado debe contar con plataforma de material resistente, de fácil lavado y dimensiones adecuadas. Puede contar con pasillo y balcones laterales que permitan la adecuada supervisión de las operaciones.

Las áreas que deben contar con lavamanos de uso no manual deben ser: áreas de sacrificio, de desposte, de puntos de inspección, otras según necesidad.

Contar con esterilizadores de equipo (Figura N°7), filtros de desinfección de acuerdo al equipo (sierra de pecho, sierra de canal, cuchillos, etc.) y que estos sean de material resistente a la corrosión.



Figura N° 7 Esterilizadores para equipo al momento del faenado. ⁽²⁰⁾

3.3.15 Tecles y sistemas de rieles

Debe disponer de un sistema de rieles desde la sala de matanza hasta el despacho. La estructura de soporte debe ser de material no corrosivo.

Los rieles deben ser de metal resistente a la oxidación. La altura y distancia mínima para los rieles son: rieles destinados para bovinos deben estar a una distancia mínima entre sí de 80 cm y localizados a no menos de un metro de las paredes, y del piso al canal una distancia como mínimo de 60 cm; los rieles deben colocarse a no menos de 30 cm del techo y los canales suspendidos a no menos de 30 cm del suelo. En la sección de sangrado, las operaciones de sangrado deben realizarse en

el sistema aéreo, el tecele de elevación debe tener una velocidad y operatividad adecuada que garantice un rápido levantado del animal, sin ocasionar retrasos ni aglomeraciones.

3.3.16 Características de diseño del área de faenado

El piso debe ser de material resistente, antideslizante, impermeable, lavable y desinfectables, con inclinación del 2% hacia la boca de desagüe respectiva. Asimismo, deberá contar con un drenaje hacia las canaletas colectoras, las mismas que deben ser provistas de rejillas y trampas para sólidos, las cuales deben de ser de material no corrosivo, desmontable, de fácil limpieza.

Las paredes deben ser lisas, repelladas, afinadas y pulidas, resistentes, no toxicas, impermeables, no absorbentes, desinfectables y de colores claros con cemento blanco o pintura epóxica grado alimenticio. Los ángulos entre el piso y las paredes deben ser cóncavos (redondeados) a fin de facilitar la limpieza y desinfección.

El techo, cielo raso y demás instalaciones suspendidas, deben estar diseñadas y construidas de forma que no permita la acumulación de suciedad y el desprendimiento de partículas. Las ventanas y demás aberturas deben construirse de forma que impida la acumulación de suciedad, sean fáciles de limpiar y desinfectar. Las puertas deben estar construidas de material higiénico, sanitario y ser lavables.

3.3.17 Iluminación

Debe disponerse de iluminación adecuada tanto natural como artificial y en todas las áreas donde se realicen actividades del proceso de faenado. Las luminarias y soportes suspendidos deben estar protegidos a fin de impedir la contaminación de los productos y subproductos, en caso de rotura o accidente.

3.3.18 Ventilación

Las salas deben disponer de ventilación adecuada a fin de evitar el calor, el vapor, la condensación y asegurar que el aire en los locales no esté contaminando con olores, polvo, vapor ni humo.

La dirección de la corriente de aire no debe ir desde una zona sucia hacia una zona limpia. Las aberturas para la circulación del aire deben estar protegidas por una malla de material no corrosivo y dispuesto de marcos que puedan retirarse fácilmente para una total y fácil limpieza, a fin de evitar el ingreso de vectores u otros elementos contaminantes.

3.3.19 Agua potable

Todo rastro o matadero debe disponer de suficiente suministro de agua potable, asegurando la cantidad y calidad, con instalaciones apropiadas para su almacenamiento y distribución, estimando un volumen promedio de 1,000 litros/día por bovino y 500/litros/día para porcinos (de acuerdo a normativa de MINSAL Acuerdo No. 1169). La presión del agua no debe ser menor a 1 atmósfera y de 3-5 partes por millón (ppm) la concentración de cloro en el agua. Los tanques de depósitos de agua deben tener como mínimo, una capacidad útil de almacenaje suficiente para cubrir los requerimientos de un día normal de trabajo, más un 30% de reserva.

3.3.20 División de la playa de faena

Se debe sectorizar la operatividad de la playa de faena en zonas definidas: zona sucia, zona intermedia y zona limpia (Cuadro N°1)

Cuadro N° 1 Descripción de áreas en la playa de la faena ⁽²⁰⁾

Zonas de Sala de Faena	Descripción.
Zona Sucia	Inicia con la sensibilización hasta el degüello del animal. Es el área sin restricción sanitaria para la circulación de personas.
Zona Intermedia	En esta área se realizan todas las operaciones comprendidas del eviscerado. Es área restringida y su ingreso debe ser con filtro sanitario y solo personal autorizado.
Zona Limpia	En la zona limpia se realizan las operaciones comprendidas desde el eviscerado hasta las salidas de las reses de la playa de faena. Es el área restringida delimitada por perímetro y/o filtro a solo personal autorizado.

3.3.21 Local para inspección

La inspección veterinaria deberá de contar con una oficina para su uso exclusivo, con servicios sanitarios propios, armario, escritorio y cualquier otro material necesario para el adecuado desempeño de la función de inspección veterinaria.

3.3.22 Material y equipo

Material y equipo

Todo matadero debe de contar con el equipo y materiales adecuados para la operatividad del proceso de faena, preferentemente de acero inoxidable o material que no sea absorbente, de fácil limpieza y que no sea corrosivo (porta cabezas, ganchos, cuchillos, chairas, perchas, carreta para inspección sanitaria, básculas, mesas, sierra circular para cortar hueso, mesas de trabajo, cuchillos ganchos, balanzas, contenedores, afiladores de cuchillo, anaqueles, depósitos para carne, sierra de pecho y de canal, entre otros).

Los equipos y utensilios que entren en contacto con los productos y subproductos del faenado de los animales, deben ser de material resistente, impermeable, resistentes a la corrosión, no contaminantes, de superficies lisas, sin grietas o hendiduras; igualmente no deben ser absorbentes y ser resistentes a las acciones de limpieza y desinfección. Los equipos fijos se deben instalar de manera que permitan un fácil acceso para su limpieza y desinfección.

Los equipos y materiales empleados para productos y subproductos no comestibles o decomiso, deben marcarse y no usarse para los de consumo humano.

Se debe contar con instalaciones adecuadas para el manejo de productos no comestibles y decomisados.

Para el personal operario se debe considerar la utilización de equipo completo (casco, guantes, botas de hule, delantal, redecillas, cubre boca, porta cuchillos de material de fácil limpieza, chaira) y exámenes de salud de acuerdo a norma vigente actualizado cada seis meses.

Contar con oficinas administrativas, de inspección veterinaria, caseta de vigilancia, bodega.

La distancia de retiro de las instalaciones con respecto a la colindancia (se refiere a la prevención de impactos molestos por la actividad, en el entorno inmediato), debe ser como mínimo de 25 metros en el entorno.

Esta área debe ser utilizada en la implementación de barreras viva para el control de malos olores, mediante la plantación de especies apropiadas para tal fin. Los servicios sanitarios en número suficiente según regulación vigente, separados por sexos, vestideros amplios bien ventilados y con casilleros, lavamanos de acción no manual tanto en área de sacrificio como cerca de los servicios sanitarios, provistos de jabón líquido neutro e inodoro, papel toalla o secadores de aire.

3.3.23 Área para el tratamiento de cueros

Cuando la limpieza y salado de pieles se realice dentro del matadero, se debe contar con un área destinada exclusivamente para ese fin, permaneciendo en ella como máximo tres días. Esta actividad debe garantizar la no propagación de plagas, enfermedades u olores indeseables.

3.3.24 Lavado y desinfección de vehículos

Debe destinarse un área para el lavado y desinfección de vehículos de transporte de animales; la cual debe estar ubicada cerca al desembarcadero y debe tener las siguientes características: Pisos impermeables con pendiente para evitar la acumulación de líquidos y desagüe, propio del área de limpieza. La limpieza debe realizarse con enfoque de producción limpia.

Contar con un sistema para la desinfección de los vehículos después del lavado y dispositivos para los desechos provenientes de los vehículos (estiércol, paja, arena, otros).

Los desagües deben de conducir hacia el a las aguas verdes del sistema de tratamiento.

3.3.25 Manejo del decomiso

Debe existir un área y recipiente adecuado donde se depositen los decomisos. Estos productos deben ir directamente al equipo de desnaturalización.

Digestor: para el manejo del decomiso, se debe disponer de un equipo para la desnaturalización y el decomiso por razones sanitarias, incluyendo animales muertos en los corrales o en el transporte. Este proceso permite la obtención final de un material libre de gérmenes patógenos. El tanque digestor debe contar con una inyección directa de vapor y con una capacidad para introducir un bovino adulto entero. (Figura N°8) ⁽²⁰⁾



Figura N° 8 Digestores apropiados para los decomisos ⁽²⁰⁾

3.4 Carne cruda de animales de abasto

La cría intensiva del ganado aumenta mucho la difusión de los microorganismos de animal a animal y en el matadero y durante el procesado de canal a canal, los animales pueden ser portadores y eliminar bacterias sin producir síntomas.

Por regla general se acepta, asumiendo que los animales no estén exhaustos en el lapso de su muerte, que las zonas internas de los tejidos de los animales sanos no deben contener bacterias en el momento de su sacrificio en el matadero. El análisis microbiológico de la carne de aves o de otras especies de abasto en el comercio al detalle revela la presencia de diferentes tipos y cantidades variables de microorganismos. La mayoría de bacterias alterantes son aerobias y crecen en la superficie de la carne. Pueden distribuirse irregularmente por la carne a consecuencia del picado o trituración ⁽²⁶⁾.

Las enfermedades transmitidas por los alimentos suponen una importante carga para la salud. Millones de personas enferman y muchas mueren por consumir alimentos insalubres ⁽²⁴⁾.

Todas las carnes están englobadas dentro de los alimentos proteicos y nos proporcionan entre un 15 y 20% de proteínas, que son consideradas de muy buena calidad ya que proporcionan todos los aminoácidos esenciales necesarios. Son la mejor fuente de hierro y vitamina B 12.

Aportan entre un 10 y un 20% de grasa (la mayor parte de ella es saturada), tienen escasa cantidad de carbohidratos y el contenido en agua oscila entre un 50 y 80%. Por su valor nutricional es un alimento comúnmente consumible en la cual puede haber contaminación antes de su consumo, la carne de cerdo está teniendo mayor demanda tanto por su composición como su precio con la importancia que adquiere este alimento es necesario que sea inocuo para salvaguardar la salud humana por ello es necesario estar seguro de la inocuidad de estos. ⁽³⁰⁾.

3.4.1 Propiedades de la carne y productos cárnicos

La carne es un excelente medio de cultivo para toda clase de microorganismos debida a la elevada cantidad de nutrientes, pH cercano a la neutralidad y una actividad de agua igual o superior a 0.98, bajo estas condiciones prácticamente todos los microorganismos son capaces de crecer, incluidos los patógenos.

Durante los procesos de obtención de la carne, esta puede contactar con la piel de los animales sacrificados, su contenido estomacal y entérico, el equipamiento y utensilios del establecimiento, las manos y ropas de los operarios, el agua utilizada para el lavado de la canal y del equipo, el aire de las zonas de procesado y de almacenamiento. Consecuencia de ellos es la presencia de células microbianas en la superficie de la canal, en superficies de músculo y grasa previamente estériles.

La flora inicial en el momento de sacrificio es muy amplia que pueden proceder bien de las superficies y tracto gastrointestinal del animal (*Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Enterobacterias*, *Lactobacilos*, etc), o del hombre (*Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*), o bien del entorno. Sin embargo, el almacenamiento a bajas temperaturas seleccionara un grupo limitado de microorganismos aerobios psicrotrofos, especialmente microorganismos de los géneros *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Psychrobacter*.

Entre las bacterias que pueden poner en peligro la salud pública se encuentran patógenos como la *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringer* y *Listeria monocytogenes*. (21).

Es por ello que, desde el momento del sacrificio hasta la llegada del producto final al consumidor, deben de mantener una serie de condiciones que impidan el crecimiento de microorganismos patógenos y retrasen al máximo el crecimiento de otros que sin serlo pueden alterar las características organolépticas o la apariencia del producto, o ambas cosas a la vez, haciéndose inaceptable para su consumo y pueda significar un riesgo para la salud del consumidor (Cuadro N° 2) (28).

Cuadro N°2 Bacterias Patógenas aisladas de Cárnicos (18).

Microorganismo	Carne fresca	Productos cárnicos
<i>Staphylococcus aureus</i>	++	++
<i>Salmonella sp.</i>	++	++
<i>Listeria monocytogenes</i>	++	++
<i>Campylobacter sp.</i>	++	++
<i>Escherichia coli</i>	++	++
<i>Aeromonas sp</i>		+
<i>Bacillus cereus</i>		+
<i>Yersinia enterocolitica</i>	++	+
<i>Clostridium perfringens</i>	++	+
<i>Clostridium botulinum</i>	+	++
+: se especula que sean un posible riesgo; ++: aislado frecuentemente y/o implicado en brotes documentados		

3.5 Enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales continúan demostrando altas tasas de incidencia en los países y causando significativa morbilidad y mortalidad. Las infecciones y parasitosis del ganado son capaces de producir la muerte de los animales, provocando su destrucción o reducir la

producción de carne o leche de los supervivientes, todo esto reduce a la vez el suministro de alimentos disponibles para el ser humano.

Estas enfermedades son también un obstáculo para el comercio internacional, así como grandes pérdidas en los sectores productores de carne o vegetales y en general para la economía de una comunidad o país lo que puede tener varias repercusiones para la salud en la sociedad. (7).

La inocuidad de alimentos en la última década ha adquirido una gran importancia por la gran diversidad de enfermedades. La enfermedad transmitida por los alimentos es ocasionada al consumir alimentos o bebidas contaminados. Muchos microbios o patógenos diferentes causantes de enfermedad, pueden contaminar los alimentos, por lo que hay muchas infecciones diferentes transmitidas por los alimentos. Además, productos químicos venenosos u otras sustancias nocivas pueden causar enfermedades transmitidas por los alimentos si se hallan presentes en ellos. (15).

Entre los patógenos más importantes tenemos *L. monocytogenes* causando síntomas gastroentericos, reproductivos y algunas veces nerviosos, en el género *Salmonella* se puede mencionar varias especies de importancia en estas enfermedades, otro patógeno importante es la *E.coli* causante de síntomas de tipo gastroentericos. (29).

3.6 Genero *Listeria*

El género *Listeria* que contiene siete especies, pero solo dos son de interés en la patología humana y animal las más importantes son *L. monocytogenes* y *L. ivanovii*, la primera es la de mayor importancia, es un bacilo gram-positivo, anaerobio facultativo, de 0.5 a 2 micras de largo por 0.5 micras de diámetro, móvil a temperatura de 20 a 25 °C. Es beta-hemolítico en agar sangre y forma una angosta banda de hemolisis alrededor de las colonias, una característica destacable es su capacidad de desarrollarse a temperaturas bajas, está ampliamente distribuida entre la vegetación, suelo y el intestino de hombre y animales. (30).

Entre sus factores de virulencia se encuentran los antígenos somático (O) y flagelares (H), la beta hemolisinas citolíticas (listeriolisinas) y su capacidad lipolítica, siendo además capaz de crecer en el interior de las células fagocíticas mononucleares, escapando al sistema inmune del hospedador.⁽²⁷⁾

3.6.1 Listeriosis

La listeriosis es una infección causada por la ingesta de alimentos contaminados con la bacteria *L. monocytogenes* y que produce distinta sintomatología de acuerdo con el órgano del cuerpo en el que se ha alojado y con la edad de la persona que la padece. La enfermedad no es común en niños, adultos jóvenes, y aquellas personas con sistema inmune sano.

El grupo más afectado es el de los recién nacidos y los mayores de 50 años. La mayoría de las personas pueden estar en contacto con la bacteria y sin embargo no contraer listeriosis. Las mujeres embarazadas, los recién nacidos, (que pueden contagiarse a través de la madre durante la gestación, durante el parto, o luego de nacer, en la maternidad), las personas de edad avanzada, y aquellas con el sistema inmunológico debilitado por causas diversas, tienen riesgo de enfermarse gravemente al comer alimentos que la contengan.

La bacteria se encuentra con frecuencia en la tierra, en el alimento para el ganado, en los granos almacenados en silos y aún en el agua, por lo que puede ingresar a un organismo por la ingesta de verduras crudas o productos lácteos contaminados. Los animales pueden tener *L. monocytogenes* en sus intestinos sin estar enfermos. Debido a esto, las bacterias se pueden propagar hacia la carne y productos lácteos. Las contaminaciones más habituales se dan con el consumo de alimentos listos para comer tales como carnes mal cocidas, embutidos, fiambres, productos deshidratados.⁽³¹⁾

3.6.2 Presentación de la enfermedad en el hombre

La enfermedad puede manifestarse en forma leve o severa y toma un promedio de unas tres semanas para que aparezcan los primeros signos. Lo hace con síntomas parecidos a los de la gripe, tales como fiebre, dolores musculares y escalofríos. A

veces se presentan malestares estomacales, como náuseas ó diarrea. Si la infección se propaga hacia el sistema nervioso, pueden presentarse síntomas tales como dolores de cabeza, confusión, pérdida de equilibrio, rigidez del cuello (tortícolis) o convulsiones. Si la mujer embarazada contrae la enfermedad pueden experimentar sólo leves síntomas parecidos a los provocados por la gripe, pero la infección puede provocar un parto prematuro y hasta llegar a ser fatal para el feto, dado que puede ser transmitida a través de la placenta. En la embarazada como en la mayoría de los adultos que contrajeron la listeriosis, la meningitis es la forma más frecuente en que se desarrolla esta infección. Otra sintomatología consiste en la infección de los ojos, con dolor y enrojecimiento, o en la sangre o los ganglios linfáticos. En algunos casos, la infección produce insuficiencia cardíaca. (7).

3.6.3 Diagnostico

La metodología estándar para la detección y aislamiento de *L. monocytogenes* se compone de porciones analíticas de 25.0 g que son pre-enriquecidas para especies de *Listeria* a 30°C durante 4 hr en caldo de enriquecimiento *Listeria*.

La incubación para el enriquecimiento selectivo se mantiene a 30°C para un total de 48 hr. El cultivo de enriquecimiento es estriado a las 24 y a las 48 horas en uno de los medios selectivos diferenciales con el fin de aislar a las especies de *Listeria*. (2).

3.7 Genero *Escherichia*

Este género pertenece a la familia Enterobacteriaceae, la *E.coli* es un componente normal de la flora intestino grueso de los animales homioi térmicos, incluido el hombre. *E.coli* es bacilo gram negativo, móvil o inmóvil, anaerobio facultativo comparte muchas características con el género *Salmonella*.

Se clasifica en diferentes serotipos de acuerdo con el esquema elaborado originalmente por Kauffmann, el esquema se basa sobre todo en los antígenos somáticos O que diferencian *E.coli* en más de 170 serogrupos. Las cepas patógenas que causan enfermedad entérica se agrupan en cinco categorías:

- Enterohemorrágica
- Enterotoxigenicas

- Enteroinvasivas
- Enteropatógenas
- Enteroagregativa

3.7.1 Colibacilosis

La colibacilosis es un término general que define a una infección por *E.coli* caracterizada por una o más de las siguientes patologías: diarrea, enteritis, septicemia o bacteriemia. Ciertas cepas de *E.coli* sintetizan una toxina semejante a la shigella (verotoxina), que afecta a las células vero. Se sospecha que la toxina interviene en la patogénesis de la enfermedad edematosa porcina y la diarrea de terneros y conejos.⁽³⁰⁾

La patogenicidad es función de algunos antígenos superficiales y de las toxinas que generan. Así, las fimbrias actúan aportando su capacidad de adherencia, los antígenos O y K presentan propiedades antifagocitarias e inhibitorias de las sustancias bactericidas del suero, y son responsables de la virulencia de las cepas invasivas, cuya síntesis está codificada por genes que se encuentran en plásmidos de elevado peso molecular. Presentan una endotoxina ligada al lipopolisacárido, en especial al lípido A, responsable de la acción pirógena y probablemente de las alteraciones vasculares que se producen en las infecciones generalizadas.

Algunas cepas pueden producir exotoxinas responsables de la producción de diarreas, cuya síntesis está codificada por la presencia de plásmidos, que a su vez pueden contener genes asociados con la capacidad de adherencia y otras propiedades (producción de colicinas, hemolisinas y resistencias a los antibióticos). Se conoce la existencia de una enterotoxina termolábil (TL) y antigénica semejante a la enterotoxina de *Vibrio cholerae*, que actúa activando la adenilciclase, la cual a su vez transforma el ATP en AMP cíclico produciendo un aumento de la secreción de agua y electrolitos. Puede existir una toxina termoestable (TS), de bajo peso molecular y no antigénico, que también produce acumulación de líquidos en el intestino por un mecanismo distinto y poco conocido.⁽⁶⁾

3.7.2 Presentación de la enfermedad en el hombre

El periodo de incubación es de 2 a 9 días, la enfermedad puede manifestarse desde una diarrea leve hasta una colitis hemorrágica severa, con fuertes dolores abdominales, con poca o ninguna fiebre. Al principio la diarrea es acuosa, pero después se vuelve hemorrágica, el 50% de los pacientes tienen vómitos. La infección por *E.coli* O157:H7 se teme sobre todo por sus complicaciones, una de ellas es síndrome hemolítico-urémico, que en los niños es la principal causa de deficiencia renal aguda y frecuentemente requiere de diálisis y transfusiones. ⁽³⁰⁾.

3.7.3 Diagnostico

La denominación genérica coliformes se designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos. No todos los coliformes son de origen fecal, por lo que se hizo necesario desarrollar pruebas para diferenciarlos a efectos de emplearlos como indicadores de contaminación. Se distinguen, por lo tanto, los coliformes totales que comprende la totalidad del grupo y los coliformes fecales aquellos de origen intestinal. *E.coli* se encuentra ampliamente distribuida en el intestino de los seres humanos y animales de sangre caliente, es el anaerobio facultativo predominante en el intestino y parte de la flora intestinal esencial que mantiene la fisiología del huésped sano.

En alimentos los coliformes no se consideran indicadores de contaminación fecal sino solamente indicadores de calidad. ⁽¹⁵⁾.

El método de determinación de *Escherichia coli* por el conteo en placa Petrifilm se basa en el principio de que cada una de las bacterias coliformes y *E. Coli* (EC) presentes en una muestra formara una colonia visible y separadas al mezclarse con los componentes de las placas Petrifilm que contiene Rojo Bilis Violeta (VRB) un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de la actividad glucoronidasa, 5 bromo-4-cloro-3-indolyl-b-D-glucoronico (BCIG), y el indicador tetrazolium que facilita la enumeración de las colonias.

Siendo los coliformes y *E. coli* productores de ácido y gas de la fermentación metabólica de la lactosa; las colonias de coliformes van generando ácido por lo que el indicador de pH (FTC Cloruro de triferil tetrazolium) va oscureciendo el color del gel, el gas queda atrapado alrededor de la colonia confirmando la presencia de un coliformes y las colonias de *E. Coli* se colorea de azul con formación de gas.

3.8 Genero *Salmonella*.

Según la última edición del manual de Bergey, *Salmonella* se encuentra dentro de las gamma-Proteo bacterias, en el orden Enterobacteriales, perteneciendo a la familia Enterobacteriaceae. Su morfología son bacilos cortos gram-negativos no esporulados, se trata de bacterias anaerobias facultativas, oxidasa negativa.

Con excepción del serotipo Gallinarum-Pullorum, son móviles gracias a sus flagelos peritricos. Los miembros del genero crecen en un amplio abanico de temperaturas (7°C a 48°C) a un pH entre 4 y 8 y con actividades de agua por debajo de 0.93, haciéndolo de forma rápida en medios de cultivo comunes en atmósferas tanto aeróbicas como anaeróbicas. ⁽¹⁾.

El género *Salmonella* estaba formado hasta no hace mucho tiempo por una única especie dividida en múltiples serotipos según el esquema de Kauffmann-white, que se basaba en los antígenos O (somáticos) y H (flagelares). Esta única especie fue posteriormente dividida en siete subgrupos a partir de los resultados obtenidos mediante estudios bioquímicos, confirmados por técnicas de hibridación de ADN. Hay actualmente 2,200 serotipos entre las más importantes, dentro de las cuales se incluyen las serovariedades. Clásicamente se distinguían tres únicas especies patógenas primarias: *S. typhi*, *S. choleraesuis* y *S. enteritidis*. ⁽³⁰⁾.

3.8.1 Salmonelosis

La salmonelosis es una enfermedad de transmisión alimentaria, en especial por alimentos de origen animal y pueden aparecer en brotes en escuelas, guarderías, restaurantes y residencias de ancianos. El período de incubación es por lo general

entre 12 a 36 horas, a veces hasta 6 y 48 horas. El único reservorio de la *S.typhi* es el hombre, de modo que se transmite de una persona a otra.

Produciendo síntomas como diarrea y dolor abdominal, a través de las heces del enfermo se elimina un gran número de esta bacteria, con un periodo de incubación de 7 a 28 días, causante de dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal y diarrea, erupción máculo-papulosa en pecho y espalda, los enfermos presentan un período de convalecencia entre 1 y 8 semanas, las personas curadas eliminan *Salmonella*.⁽²⁹⁾

En el caso de la *Salmonella*, es necesaria una inoculación relativamente grande, entre 10 a 100 millones de organismos, para provocar los síntomas en humanos saludables, según estudios hechos con voluntarios, al ser estas bacterias muy poco resistentes a los medios ácidos. Sin embargo, un pH estomacal artificialmente elevado, poco ácido, reduce enormemente el número de organismos necesario para provocar síntomas. El diagnóstico se hace de tipo microbiológico tradicional utilizando medios comunes, diferenciales y selectivos con identificación a través de pruebas bioquímicas, así como también pruebas serológicas. ⁽³⁾

3.8.2 Salmonelosis en el hombre

De forma clásica, *S.typhi* y *S. paratyphi* son responsables de los brotes de las así denominadas fiebres entéricas tifoidea y paratifoidea, que tienen un origen alimentario y no suelen ser juzgadas como intoxicaciones alimentarias. Ocasionalmente, otras especies de *Salmonella* causan infecciones del tracto urinario y bacteremia que puede desembocar en meningitis y osteomielitis. Estas patologías son mucho más frecuentes en pacientes inmunosuprimidos, especialmente en aquellos con SIDA, produciendo gastroenteritis y bacteremia con una frecuencia de 20 veces superior a la registrada en pacientes normales ⁽⁷⁾.

3.8.3 Diagnóstico

La presente técnica para la detección de *Salmonella sp* en alimentos, describe un esquema general que consiste de 4 pasos básicos:

Pre-enriquecimiento, es el paso en donde la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que permite restaurar las células de *Salmonella* dañadas, logrando de esta manera una condición fisiológica estable. Enriquecimiento selectivo, se logra a partir de un medio de cultivo que conjunte dos condiciones, por un lado, debe incrementar las poblaciones de *Salmonella* y por otro inhibir otros microorganismos presentes en la muestra. Selección en medios sólidos, este punto se deriva directamente del anterior y se utilizan medios selectivos, que restringen el crecimiento de otros géneros diferentes a *Salmonella* y que permitan el reconocimiento visual característico de colonias sospechosas.

Identificación bioquímica, este paso permite la identificación genérica de los cultivos de *Salmonella* y la eliminación de cultivos sospechosos falsos.

El método se basa en el análisis de 25.0 g de muestra, los cuales se pre-enriquecen para favorecer el crecimiento de las bacterias presentes, luego de este pre enriquecimiento se traslada de este a medios selectivos y diferenciales con el objetivo de obtener colonias características y típicas de *Salmonella sp.* (30).

CAPITULO IV
METODOLOGIA

4.0 Metodología

4.1 Metodología de Campo

La investigación se realizó en la sala de matanza del departamento de Santa Ana el cual está ubicado en 25 Av. Sur y Calle Libertad Oriente, contiguo a Turicentro Sihuatehuacan, el procesamiento de las muestras se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) en la Universidad de El Salvador.

Se realizaron tres visitas a la sala de matanza en las que se verificó el proceso de sacrificio y faenado de las especies en estudio.

Se verificó el grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Faena e Higiénero Sanitarias al momento del sacrificio.

Se realizó una entrevista con el gerente de la sala de matanza, en la cual se le solicitaron todos los registros, de igual manera al personal que labora en el rastro para verificar las Buenas Prácticas dentro de los procesos en la sala de matanza.

Después de observar el proceso de sacrificio, verificar los registros utilizados en el rastro y entrevistar al personal que labora en él, se destacaron algunos puntos en el proceso de sacrificio que deben ser mejorados, por esta razón se elaboró una Guía de Buenas Prácticas de Faena e Higiénero Sanitarias.

4.2 Universo Muestral

Nuestro universo muestral lo constituyen todos los animales sacrificados en la sala de matanza de Santa Ana, siendo así nuestras muestras el tejido muscular de bovinos y cerdos seleccionados. La toma de las muestras se realizó el segundo día de la matanza de la semana, recolectando con medidas asépticas una muestra de cada animal sacrificado con una porción aproximada de 100 g de tejido muscular de bovino y cerdo, en total se recolectaron 20 muestras de bovino y 20 muestras de cerdo, las cuales son la población total de animales sacrificados en el día.

4.3 Recolección de Muestras

Se tomaron muestras de carne de bovinos y carne de cerdos que fueron sacrificados en la sala de matanza, recolectando 100 gr de los músculos trapecio y latissimus dorsi de la región dorsal de la espalda de bovinos conocido comercialmente como lomito (Figura N°9), y trapecio región dorsal de la nuca conocido comercialmente como lomo en cerdos. (Figura N°10).

Las muestras se recolectaron en bolsas herméticas estériles y se cortó la muestra con tijeras estéril utilizando alcohol al 70% para desinfectar las bolsas y los guantes utilizados, las muestras fueron identificadas de acuerdo a la especie y número del animal sacrificado. La muestra de carne de cerdo se identificó con la inicial C y el número correlativo ejemplo N° 1 fue identifica C1, y así sucesivamente, de igual manera se identificaron las muestras de carne de bovino con la inicial B y el número correlativo, posteriormente las muestras se trasladaron en una hielera a 7 °C al laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) donde se realizó el análisis microbiológico.

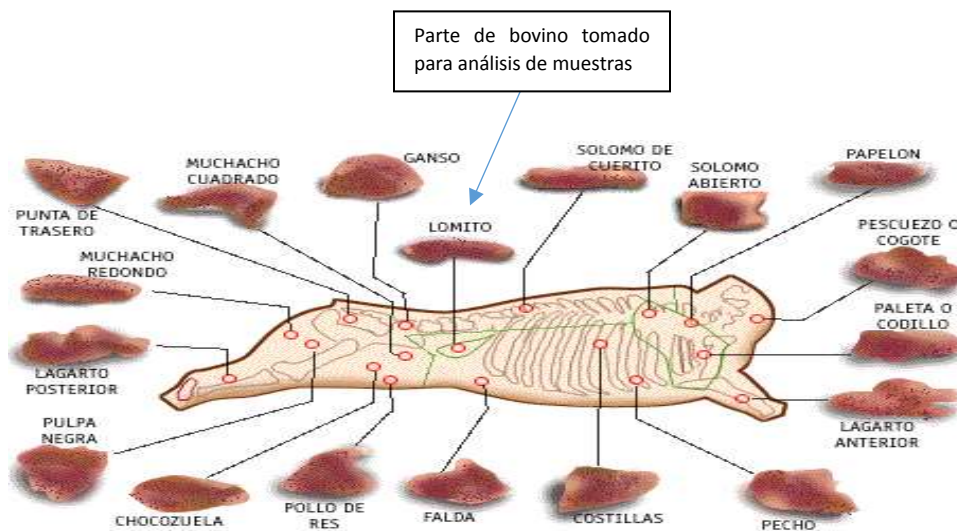


Figura N° 9 Recolección de muestra de bovino ⁽²²⁾.

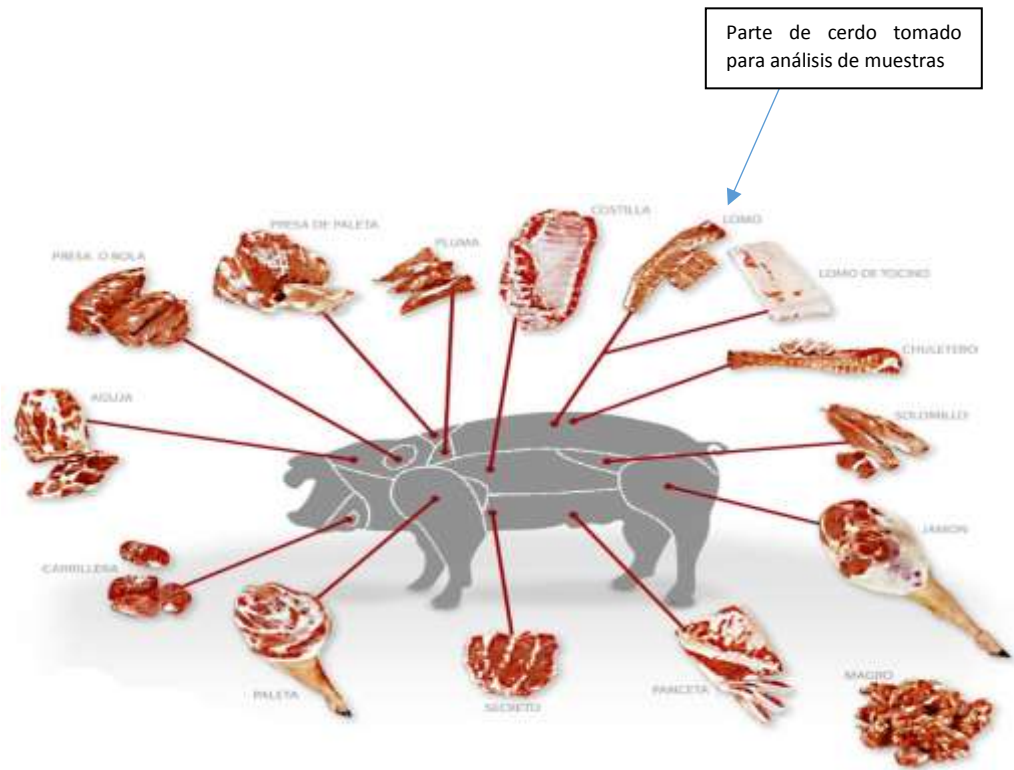


Figura N° 10 Recolección de muestra de cerdo (22).

4.4 Identificación de *L. monocytogenes* en utensilios, mesa multi utilizados para el faenado de los animales, así como también la pared de las instalaciones del rastro.

Se tomaron 5 puntos en el rastro de Santa Ana, los cuales fueron cuchillo, gancho, tabla de corte de piezas, mesa multi usos y pared se utilizó hisopos que contenían caldo Letheen 3M , para realizar esta toma de muestra se hizo una rotación con el hisopo en la superficie del utensilio donde tenía contacto con la canal del animal.

Se realizaron dos tomas de muestras, la primera se tomó antes de empezar el proceso de faenado y la segunda muestra al terminar el proceso.

Las muestras se recolectaron en bolsas herméticas y se trasladaron al laboratorio en una hielera a 7 °C.

4.5 Metodología de laboratorio

4.5.1 Aislamiento e Identificación de *Listeria monocytogenes*.

Las muestras se procesaron en el laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de acuerdo a las metodologías presentadas en el Manual Análisis Bacteriológico (BAM) 2011.

4.5.2 Pre-enriquecimiento y enriquecimiento

Se pesaron 25.0 g de la muestra refrigerada en una bolsa de Stomacher, luego agregamos 225 ml de caldo BLEB y se homogenizo por 2 minutos. Se Incubaron durante 24-48 h a 30°C.

4.5.3 Aislamiento

A partir del caldo de enriquecimiento BLEB de 24 h y 48 h de incubación, se estrió en agares selectivos para aislamiento: PALCAM y ALOA (agar cromogénico). Se incubaron las placas de Agar PALCAM y ALOA a 35°C durante 48 h, en las cuales se esperó un crecimiento característico.

4.5.4 Selección de colonias sospechosas

Se examinaron las placas después de la incubación, y se determinó la presencia de colonias típicas de *Listeria spp* en Agar PALCAM y *L.monocytogenes* en Agar ALOA. Las colonias típicas son pequeñas (aproximadamente 1mm) y rodeadas por un halo de oscurecimiento debido al hidrólisis de la esculina en Agar PALCAM y colonias Celeste verde con formación de halo en Agar ALOA.

Se seleccionaron las colonias típicas de ambos medios de Cultivo y sembraron por estriado en agar TSA-YE y se aislaron las colonias sospechosas. Se incubaron las placas a 30°C durante 48 h. De las mismas colonias obtenidas se estriaron en Agar Sangre e incubaron a 35°C 48 h (anexo 1)

4.5.5 Pruebas Bioquímicas.

Prueba de la catalasa

Se tomó una colonia aislada y se agregó una gota de solución de peróxido de hidrógeno al 3 % en un portaobjeto. Las colonias aisladas positivas a genero *Listeria* sp. Formaron al instante burbujas de gas. (ver anexo 2)

Coloración de Gram

Se realizó la coloración de gram a las colonias sospechosas aisladas de *Listeria* sp. (Bacilos Gram positivos cortos y delgados).

4.5.6 Prueba de CAMP

En una placa de agar sangre de oveja se estrió en forma paralela una línea simple de *S. aureus* ATCC y otra línea simple de *Rhodococcus equi* ATCC, separadas entre sí 3-4 cm. Se utilizó un asa de inoculación.

Se estriaron los cultivos test en una línea simple y perpendicular entre las dos líneas de cultivos de referencia. Las líneas de cultivo test estaban separadas de las de referencia 2 - 4 mm. Durante el estriado las líneas test y referencia no se tocaron para evitar contaminación cruzada. Simultáneamente se estrió cultivos controles de *L.monocytogenes*, *L. innocua*. Se incubaron a 35°C por 24 h.

Se consideró reacción positiva una zona acrecentada de β -hemólisis en la intersección de los cultivos test y los cultivos de *S.aureus* y *R.equi*.

Una reacción positiva para *R. equi* se observó como una amplia zona (5 a 10 mm) en forma de “cabeza de flecha” de hemólisis. La reacción negativa se presentó como una pequeña zona (alrededor de 1 mm) de hemólisis débil en la intersección del cultivo test con la zona de difusión de *R.equi*. (ver anexo 2).

Una reacción positiva para *S.aureus* se presentó con una pequeña zona de hemólisis acrecentada, que se extiende alrededor de 3 a 4 mm del cultivo y dentro de la zona de hemólisis débil debida al crecimiento del cultivo de *S.aureus*. No ocurrió una zona grande de β -hemólisis en la proximidad de las áreas entre *S.aureus* y *L. monocytogenes*. (Cuadro N° 3 y N°4). (2).

Cuadro N. ° 3. Diferenciación de especies de *Listeria*.

Acido Producido por					
Especies	β -Hemolisisa	Manitol	Rhamnosa	Xilosa	Virulenciab
<i>L. monocytogenes</i>	+	-	+	-	+
<i>L. ivanovii</i>	+	-	-	+	+
<i>L. innocua</i>	-	-	Vd	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-	Vd	+	-
<i>L. seeligeri</i>	+	-	-	+	-
<i>L. grayie</i>	-	+	Vd	-	-
a Agar sangre					
b prueba de ratones					
c Cepas fermentadoras de Ribosa se clasifican como: <i>L. ivanovii subsp.ivanovii</i> y no fermentadores de ribosa como: <i>L. ivanovii subsp. Londiniensis</i> .					
d V, biotipos variables					
e Incluye dos subespecies- <i>L-grayi subsp. Murrayi</i> reduce el nitrato <i>L. grayi subsp. grayi</i> no reduce los nitratos.					

Cuadro N° 4. Prueba hemolítica CAMP para diferentes especies de *Listeria*

Prueba hemolítica CAMP para diferentes especies de <i>Listeria</i>		
Hemolisis		
<i>Staphylococcus aureus</i> (S)		<i>Rhodococcus equi</i> (R)
<i>L. monocytogenes</i>	+	- *
<i>L. ivanovii</i>	-	+
<i>L. innocua</i>	-	-
<i>L. welshimeri</i>	-	-
<i>L. seeligeri</i>	+	-
*son raras las cepas S+ y R+. La reacción de R+ es menos pronunciada que la de <i>L. ivanovii</i>		

4.5.7 Microgen Listeria – ID

Prueba Bioquímica comercial que se utilizó en las muestras con colonias características a *Listeria sp* para clasificar con género y especie las colonias obtenidas.

4.5.8 Expresión de los resultados.

De acuerdo a la interpretación de resultados, se indicó presencia o ausencia de *L. monocytogenes* en la cantidad de muestra analizada por gramos. ⁽³⁾.

4.6 Identificación de *L. monocytogenes* en los utensilios utilizados, mesa multi usos y pared utilizados en el proceso de sacrificio de los animales.

Las placas Petrifilm™ para control ambiental de Listeria (EL) consisten en un medio de cultivo listo para usar que contiene agentes selectivos, nutrientes, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador cromogénico que facilita la detección de colonias de Listeria. Las placas Petrifilm (EI) han sido diseñadas para análisis ambiental y constituyen una ayuda para el control de la eficiencia de las operaciones de limpieza y desinfección en las plantas. La presencia de microorganismos tipo *Listeria* tales como *L. innocua* aporta evidencia de que las condiciones ambientales son propicias para la ocurrencia de *L. monocytogenes*.

La placa Petrifilm (EL) detecta la mayoría de las especies de *Listeria* presentes en el ambiente tales como *L. monocytogenes*, *L. innocua* y *L. welshimeri*.

4.6.1 Preparación de la Muestra.

- Se tomaron 5 muestras de utensilios en la sala de matanza de Santa Ana usando hisopo previamente humedecido. Se utilizaron tubos con Caldo Lethen 3M para neutralizar los restos de agentes de limpieza.

- Se mantuvieron en refrigeración por no más de 24 horas y luego fueron procesadas en el laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD)

1. Se tomó tubo por tubo y se homogenizo con vortex por 1 minuto, manteniendo la muestra a temperatura ambiente (20-30°C).

2. Después de 1 hora se mezclaron nuevamente, para así recuperar las *Listerias* dañadas.

4.6.2 Inoculación

1. Hacer diluciones 1:10 si es necesario
2. Se colocaron las placas Petrifilm EL sobre una superficie plana y nivelada.
3. Levantando la película superior se agregó con pipeta 3 ml de la muestra y se depositó en el centro de la película inferior. Se pipeteo en posición perpendicular a la placa Petrifilm EL.
4. Dejando caer la película superior sobre la muestra.
5. Se colocó suavemente el aplicador plástico sobre la película superior cubriendo el inóculo. No se presionó, ni giro ni el aplicador.
6. Se esperó 10 minutos para permitir la formación del gel.

4.6.3 Incubación

- 1 Se incubaron las placas cara arriba en grupos de 10 máximo durante 28 horas ± 2 horas a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. No se excedió el período de incubación más de 30 horas.

4.6.4 Interpretación

- 1 Utilizando contador de Colonias se interpretaron las placas Petrifilm EL.
- 2 No se encontraron colonias características a *Listeria* sp (colonias de color rojo-violeta intenso), para los requerimientos establecidos.(anexo 3) ⁽²³⁾

4.7 Determinación de *Escherichia coli* por conteo en placa Petrifil

Antes de iniciar todos los procedimientos se desinfecto el área de trabajo con desinfectante alrededor del mechero.

- 1 Se pesaron 10.0g de la muestra y se adicionaron 90mL del diluyente a utilizar, obteniendo así la dilución 10^{-1} , agitamos vigorosamente 50 veces formando un arco de 30 cm, se dejó reposar por 3 minutos y luego se

tomaron 1.0 mL de la dilución 10^{-1} y se agregaron a 9.0mL del diluyente obteniendo así la dilución 10^{-2} y así se repitió el mismo procedimiento hasta obtener la dilución 10^{-3} y 10^{-4} .

- 2 Luego se colocaron las placas Petrifilm de coliformes y *E. coli* en una superficie plana y lisa.
- 3 Levantando la lámina superior y con la pipeta en forma perpendicular se dispensaron 1ml de la muestra en el centro del botón de la placa.
- 4 Se dejó caer la lámina hacia abajo sobre la muestra evitando la formación de burbujas de aire.
- 5 Se colocó el esparcidor plástico con el lado plano hacia abajo al centro de la lámina, para distribuir la muestra.
- 6 Se esperó por 1 minuto para permitir que solidifique el gel.

4.7.1 Incubación.

Se incubaron las placas horizontalmente con el área limpia hacia arriba y no más de 20 placas, una sobre otra, a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ por $48 \pm 4\text{h}$.

4.7.2 Interpretación.

Las placas Petrifilm para el Recuento de *E. coli* fueron leídas en cuenta colonias. Se contabilizaron las colonias de color azul a rojo azulado, asociado con formación de burbujas de gas en un área de crecimiento circular de aproximadamente 20cm^2 . (anexo N°4) ⁽²³⁾.

4.8 Aislamiento e identificación de *Salmonella sp.*

Pre-enriquecimiento

- 1 Se pesó en una bolsa de Stomacher estéril, en área aséptica 25.0 g por muestra a analizar.
- 2 Se vertieron 225.0 mL de caldo lactosado estéril en la bolsa.

- 3 Se homogenizo la muestra con el diluyente durante 30.0 seg a velocidad media en el Stomacher.
- 4 Se transfirió asépticamente la mezcla homogeneizada a un recipiente estéril de boca ancha con tapón de rosca y se dejó reposar por 60.0 min. a temperatura ambiente con la tapa perfectamente cerrada.
- 5 Luego se mezclaron bien y se tomó el pH de la muestra con papel pH.
- 6 Se mezclaron y se cerró suavemente la tapa del Erlenmeyer.
- 7 Se incubaron las muestras homogéneas a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 h.

Enriquecimiento selectivo.

- 8 Después de la incubación del pre-enriquecimiento, se agitaron suavemente.
- 9 Luego se transfirió un 1.0 mL del cultivo de pre-enriquecimiento (con una pipeta de vidrio de 1 mL, estéril) a un tubo con 10.0 mL caldo tetrionato. y 0.1 mL del cultivo de pre-enriquecimiento a caldo vassiliadis-rappaport.
- 10 Se incubaron los tubos inoculados en caldo tetrionato y caldo vassiliadis-rappaport a $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 h.(anexo N°5)

Aislamiento diferencial

Para cada uno de los caldos de enriquecimiento caldo tetrionato y caldo Vassiliadis-Rappaport se realizó lo siguiente:

- 11 Se homogenizo el tubo con caldo de enriquecimiento ya incubado.
- 12 Se tomó una muestra del cultivo anterior con asa microbiológica estéril y se estrió por agotamiento en cajas de Petri, en los siguientes medios selectivos:
 - Agar XLD
 - Agar HK
 - Agar MacConkey

13 Se incubaron las cajas ya sembradas en posición invertida a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ durante 24 ± 2 h.

- Se observaron las características macroscópicas de las colonias en los medios sólidos selectivos.
- Se seleccionaron al menos 2 colonias sospechosas de cada medio selectivo, de acuerdo con las características específicas de desarrollo en cada uno de los medios (Anexo N° 6)
- Se almacenaron en refrigeración de 5 a 8°C , las placas con medios selectivos por si era necesario tomar más colonias.
- Se realizó tinción de Gram a las colonias sospechosas.
- Se registraron las características morfológicas tanto macroscópicas como microscópicas; anotando la forma de la colonia, su color, color del medio circundante, morfología al Gram, etc.
- Se purificaron las colonias seleccionadas, sembrando nuevamente en cajas de Petri conteniendo un medio idéntico del que se tomó la colonia.

4.8.1 Pruebas bioquímicas preliminares

1. Agar triple azúcar hierro.
2. Se registraron las características del medio TSI antes de la inoculación (color del medio).
3. Se tomaron por duplicado suavemente una porción del centro de la colonia con asa bacteriológica recta (estéril); se inocularon por picadura y estría en un tubo con agar triple azúcar hierro (TSI) inclinado.
4. Se incubaron los tubos de medio TSI a 35°C durante 24 h.
5. Agar lisina hierro.

6. Se realizó el mismo procedimiento que se hizo para TSI, tomando la asada de la misma colonia con la que se sembró en estos medios, pero sembrando ahora en el agar lisina hierro (LIA). Para la interpretación de los resultados.

Los tubos positivos obtenidos característicos a *Salmonella sp* en TSI y LIA, se utilizaron para hacer las pruebas bioquímicas complementarias.

4.8.2 Pruebas bioquímicas complementarias

Caldo urea

1. Con asa bacteriológica recta estéril, se tomaron del crecimiento del tubo TSI y LIA colonias e inocularon en el tubo con caldo urea.
2. Se incubaron a 35°C durante 24±2 h.
3. Se descartaron todos los cultivos ureasa positiva. Conservando los cultivos ureasa negativos.

Medio SIM (Sulfuro-indol-movilidad)

1. Se realizó con asa bacteriológica recta estéril una punción vertical en el tubo con medio de SIM, de los tubos de TSI o LIA.
2. Se incubaron a 35±2°C durante 24 h.
3. Se agregaron 0.3 mL de reactivo de Kovac's para verificar la producción de indol.

Caldo RM-VP (Rojo de metilo-Voges Proskauer)

1. Se tomó con asa estéril del crecimiento del tubo TSI o LIA y se inocularon a un tubo con caldo RM-VP.
2. Prueba de Voges-Proskauer (VP)
3. Para la prueba de Voges-Proskauer se incubaron los tubos a 35±2°C durante 48± 2 h.

4. Luego se transfirió a un tubo de 13 x 100 mm estéril un mililitro de cultivo.
5. Se adicionaron al cultivo, 0.6 mL de reactivo de VP1 (alfa-naftol etanólico al 5 %), se agito y luego se agregaron 0.2 mL del reactivo VP2 (hidróxido de potasio al 40%).
6. Se agitaron los tubos y se dejaron reposar en forma inclinada, con el objeto que la reacción se lleve a cabo en presencia de oxígeno.

Prueba de Rojo de Metilo

1. Para la prueba de rojo de metilo (RM) se incubaron a $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ el resto del medio RMVP durante 48 h más (96 h. de incubación en total a partir de la inoculación del medio RMVP).
2. Se adicionaron al medio de cultivo dos a tres gotas de solución indicadora de rojo de metilo.
3. Se agito e interpretaron los resultados en forma inmediata (BAM, 2001) (Anexo N°7) ⁽³⁾.

4.9 Metodología estadística

Para el análisis de los datos se aplicaron métodos estadísticos descriptivos, relacionando las variables presencia o ausencia de las bacterias en estudio, tipos de carne con las bacterias aisladas y sala de matanza con las bacterias aisladas.

Los resultados de la investigación se compararon con el Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08 Alimentos, Grupo N° 8 Carnes y Productos Cárnicos. (Anexo N°8)

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION

5.0 Discusión de Resultados

El presente estudio se realizó en la sala de matanza de Santa Ana, las muestras se recolectaron en el período de agosto 2015 a enero 2016 , se tomaron 20 muestras de carne de bovino y 20 muestras de carne de cerdo, a las cuales se les determinó la presencia o ausencia de tres bacterias de importancia en inocuidad de alimentos, obteniendo los resultados siguientes: carne de bovino hay 7 muestras positivas a *L.monocytogenes*, 14 positivas a *Salmonella sp* y todas positivas a *Escherichia coli*, en cerdos la muestra positiva para *L.monocytogenes* fue una, y 13 muestras para *Salmonella sp* y todas positivas para *Escherichia coli* (Cuadro N° 5 y N°6).

En relación a la hipótesis planteada al inicio de la investigación se afirma que hay contaminación en la carne de cerdo y bovino de las tres bacterias determinadas, teniendo el mayor porcentaje de contaminación para *L. monocytogenes* y *Salmonella sp* en carne de bovino y *Escherichia coli* en carne de cerdo, ambas carnes indican la presencia de *Escherichia coli* a altos niveles de UFC/g.

Para determinar la contaminación de estas bacterias se realizaron dos muestreos, la carne de cerdo se tomó en horas tempranas de la mañana ya que eran los primeros animales en ser sacrificados. El segundo muestreo se hizo posteriormente en el mismo día cuando se iniciaba el sacrificio de los bovinos.

En el rastro de Santa Ana los animales llegan un día antes para que los trabajadores administrativos del rastro puedan confirmar el número de registro, carta compra-venta y el fierro sean correcto de cada animal que ingresará al rastro, posterior a esto los animales deben de pasar a la inspección ante mortem en este momento deben de hacer una revisión de sus constantes fisiológicas, realizar un examen físico y el comportamiento del animal, posteriormente pueden pasar a cuarentena (animales que están sospechosos de tuberculosis u otra enfermedad evidente) o al corral de ayuno (animales que pueden ser faenados), estos corrales no cuenta con los requisitos necesarios para albergar a los animales antes del sacrificio, además los animales no reciben un trato adecuado, cuando los animales serán faenados son guiados a un pasillo individual para que los animales poco a poco camine de

forma tranquila y sin causar mucho estrés, este pasillo lleva a los animales al área de insensibilización que debería de ser un proceso mecánico; cuando los animales se sacrifican por el método clásico con el cuchillo como es el caso en el rastro de Santa Ana, las bacterias que contaminan éste, pronto se pueden encontrarse en las carnes de las diversas partes de la canal, vehiculadas por la sangre y la linfa. En la superficie externa del animal, además de su flora natural existe un gran número de especies de microorganismos provenientes del suelo, agua, piensos y estiércol en este paso los animales no son tratados adecuadamente por el estrés que pasa en estas áreas, la insensibilización no se da con pistola de embolo cautivo como es lo recomendado y no se hace un proceso mecánico, posteriormente se da el degollé a través de la vena yugular para permitir el sangrado lo más rápido posible para que se evacue toda la sangre para garantizar una buena calidad de la carne, a partir de este paso todo el proceso debe de ser de tipo aéreo; siguiendo la parte del destazo inicia con la apertura longitudinal para retirar el cuero para exponer el subcutáneo y la parte muscular, posteriormente se realiza una incisión a nivel del abdomen para sacar sus órganos empezando por sistema digestivo este punto es muy importante en la cual se debería de hacer un amarre del recto para evitar la contaminación de la canal con las heces del animal, retirando riñones y diseccionando la caja torácica a nivel del esternón y diafragma, se retiran todos los órganos del sistema respiratorio, posteriormente separan la cabeza del resto del cuerpo a través de la articulación atlanto-occipital, posteriormente se separa la canal en dos partes por un corte longitudinal para llevarla al cuarto frio, es importante mencionar que en el rastro de Santa Ana no tiene un Médico Veterinario para llevar a cabo la inspección del animal en pie o el examen ante mortem, así como también debería de verificar todo el proceso desde el sacrificio hasta la inspección de los órganos por cada animal para verificar que esa carne no producirá ningún problema para la salud humana, así pues se pudo confirmar que no se realiza inspección ante mortem ni en el proceso de faena, también la mayor parte del proceso de sacrificio se realiza en el suelo y no de forma aérea como sería lo correcto. En diversos pasos del faenado la carne de la canal puede ser salpicada por la sangre de otros animales que están siendo sacrificados.

Los cuchillos, paños, aire, manos y ropa del personal pueden actuar como vehículos de contaminación. Siendo así la principal contaminación de la carne con *E.coli* ya que desde el inicio hasta el final de la faena no cambian ni lavan utensilios utilizados, así como también la ropa de trabajo que utilizan los operadores no es la adecuada en el rastro, es importante mencionar que dos días a la semana sacrifican ambas especies y los utensilios utilizados no son desinfectados o esterilizados por lo cual esto contribuye a la contaminación de las carnes, también se constató que se usan los mismos utensilios para todos los animales sin que estos tengan un proceso de desinfección adecuado, los requisitos antes mencionados no se cumplen en el rastro de Santa Ana lo que contribuye a la contaminación de la carne con *Salmonella*, *Escherichia coli* y *L.monocytognes* y otras bacterias de importancia en salud pública. ⁽⁹⁾

Los microorganismos patógenos que históricamente se han asociado a brotes por el consumo de carne, incluyen *Salmonella*, *Escherichia coli* y *L.monocytognes*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens* y *Yersinia sp*, aunque los primeros tres microorganismos se han reportado que actualmente son los más importantes como patógenos en carne de res; *L. monocytogenes* se ha reportado como un microorganismo persistente en rastros y plantas procesadoras de alimentos, siendo esto la mayor fuente de contaminación para el producto. Este patógeno a menudo se encuentra en cortes frescos de carnes de res. ⁽⁸⁾

Los resultado de esta investigación reflejan que hay contaminación de las muestras de carne tomadas en el rastro de Santa Ana, al analizar 20 muestras de carne de bovino y la misma cantidad en cerdos, esto reflejo que *L.monocytogenes* está presente en un 5% de las muestras analizadas de carne de cerdo (Figura N°11), en cambio la carne de res presenta un 65% de contaminación en las muestras analizadas con el mismo patógeno (Figura N°14).

Conocimientos recientes revelan que la dosis infecciosa media para los diferentes patógenos de origen cárnico puede variar de acuerdo al grado de contaminación desde algunas células, por ejemplo, *E. coli*, hasta muchos millones de células, por ejemplo, varias *Salmonella sp*.⁽¹²⁾

De acuerdo a los resultados obtenidos en la investigación *Salmonella sp* se encuentra presente en 65% en muestras de carne de cerdo (Figura N°12) y un 70% en carne de res (Figura N° 15).

De igual manera *E.coli* está presente en el 100% de las muestras analizadas de carne de cerdo (Figura N°13) y bovino (Figura N°16). Considerando que está bien establecido que la atención general en el manejo del ganado, la higiene ambiental y el transporte limitará el número de animales vivos que diseminan y son contaminados con patógenos entéricos como *Salmonella sp*, y *E. coli*, el ganado bovino es un importante reservorio para *E. coli*, formando parte de su flora nativa intestinal, por lo que se pueden contaminar las canales con heces y el contacto con la piel si no se cuentan con cuidados adecuados. ⁽¹¹⁾. La especie *E.coli* no es patógeno, solo algunas cepas o sero variedades lo son, por lo que su presencia en alimentos, ambiente o pacientes no certifica la etiología de una infección o brote de enfermedades transmitidas por alimentos. A pesar de esto cepas específicas pueden tener características patógenas y producir enfermedades como infección urinaria, septicemia, meningitis, gastroenteritis. ⁽²⁾.

El número de muestras positivas pueden deberse a varios factores, que influyen de manera negativa en la calidad sanitaria de la carne, para que un rastro opere de manera adecuada se requiere en primer lugar que cuente con las instalaciones adecuadas y los recursos suficientes (agua potable, luz, drenaje, trampas de grasa, etc..), además de la capacitación y supervisión constante del personal el cual además debe contar con vestimenta adecuada y exclusiva para el trabajo, de no ser así la exposición de la canal a la ropa y manos de los trabajadores, las superficies de contacto e incluso el ambiente de las zonas de proceso y almacenamiento puede estropear el esfuerzo del productor por ofrecer un producto de calidad ⁽¹⁰⁾.

Otro punto importante en esta investigación fue la determinación del *L.monocytogenes* en utensilios utilizados para el proceso de faenado de los animales así como también mesa multi usos y pared, obteniendo resultados negativos en todas las muestras analizadas las cuales fueron cinco muestras al inicio del proceso de matanza y al final del mismo.

Es importante en los rastros medir la contaminación *L. monocytogenes* en las superficies, utensilios y ambiente en la cual se hace el sacrificio de los animales de abasto ya que este microorganismo puede formar biopelículas que pueden perdurar y adherirse por muchos años en estos utensilios. Así pues, los resultados de esta investigación en los diferentes puntos de muestreo pared, ganchos, cuchillos, mesa multi usos y tabla de corte de piezas, que se tomaron en el rastro municipal de Santa Ana fueron negativos a *L. monocytogenes*, por lo que esta no genero la contaminación que los animales faenados presentaron (Cuadro N°7). ⁽⁹⁾

En relación a lo anterior también pudimos evidenciar que el rastro no se realiza inspección ante mortem, el faenado se realiza a nivel de piso, no se cuenta con esterilizadores de cuchillos, no se cuenta con cámara de refrigeración, no cuenta con vestimenta de trabajo; solo utilizan equipo de protección como casco, lentes y botas que estos utensilios solo servirán para evitar un accidente de trabajo no para evitar la contaminación de la carne por cualquier microorganismo.

Los resultados obtenidos no cumplen con los criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos establecidos por el RTCA 67.04.50:08 Alimentos (Cuadro 8.0), donde especifica la ausencia en 25g de muestra para *L. monocytogenes* y *Salmonella sp* y 10 UFC/gr máximo para *Escherichia coli* ⁽²⁵⁾.

Para el análisis de los datos se presentan una serie de cuadros y graficas que nos explicaran los resultados obtenidos para la determinación de la presencia o ausencia de *L.monocytogenes*, *Salmonella sp* y *Escherichia coli* en carne de cerdo y bovino en la sala de matanza de Santa Ana.

Cuadro N°5. Resumen de resultados obtenidos respecto a la contaminación de la carne de cerdo con las bacterias *L.monocytogenes*, *Salmonella sp* y *E.coli*.

Identificación de la muestra	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Escherichia coli</i>
	AUSENCIA/ 25g	*AUSENCIA/ 25g	*10g UFC/g
C1	Ausencia	Presencia	40000
C2	Ausencia	Ausencia	37000
C3	Ausencia	Presencia	45000
C4	Ausencia	Presencia	70000
C5	Ausencia	Presencia	39000
C6	Ausencia	Ausencia	10000
C7	Ausencia	Presencia	23000
C8	Presencia	Presencia	30000
C9	Ausencia	Ausencia	85000
C 10	Ausencia	Presencia	29000
C11	Ausencia	Ausencia	9000
C12	Ausencia	Presencia	25000
C13	Ausencia	Presencia	68000
C14	Ausencia	Presencia	67000
C15	Ausencia	Presencia	16000
C16	Ausencia	Ausencia	35000
C17	Ausencia	Ausencia	3000
C18	Ausencia	Presencia	7000
C19	Ausencia	Presencia	30000
C20	Ausencia	Ausencia	43000

C= Cerdo
*Limites de acuerdo a RTCA 8.0 Grupo de alimentos: Carnes y Productos Cárnicos

El presente cuadro expresa los resultados obtenidos referentes a la contaminación de *L.monocytogenes* en el que se aprecia que 1 muestra positiva, así para *Salmonella spp* 13 positivas y para *E.coli* todas las muestras son positivas a dicho microorganismo.

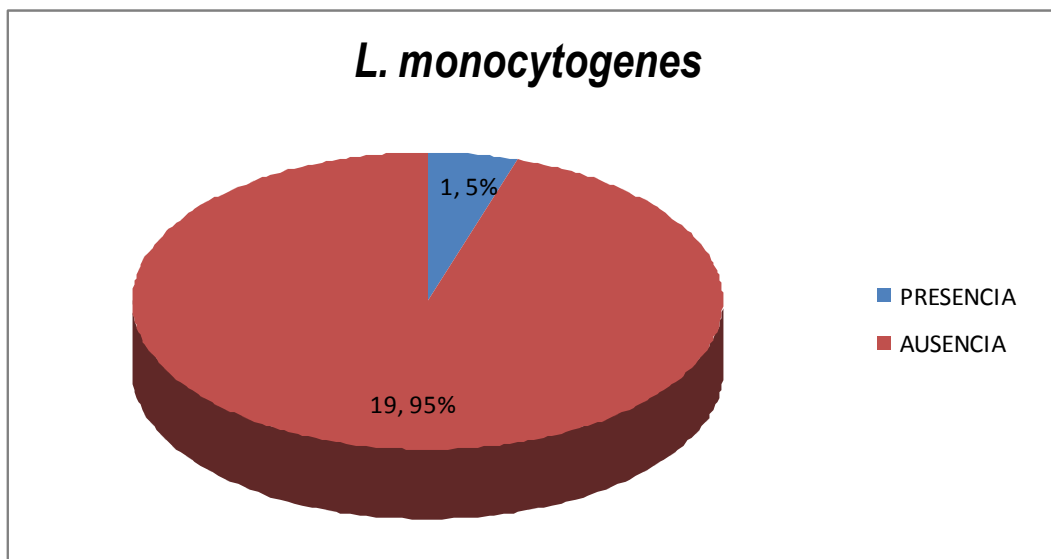


Figura 11. Resultados de la presencia y ausencia de *L.monocytogenes* en carne de cerdo.

La figura N° 11 expresa la presencia y ausencia de *L.monocytogenes* en carne de cerdo, apreciando que del total de veinte muestras, diecinueve tienen ausencia de la bacteria que representa un 95% de muestras negativas, mientras que hay presencia en una muestra y esta representa el 5% del total de muestras analizadas.

Se encontraron los hallazgos siguientes: *L.monocytogenes* se encuentra comúnmente en el intestino de los cerdos, por lo cual puede estar presente dicha bacteria sin presentar enfermedad en los animales y así contaminar la carne por cualquier proceso inadecuado que se realice en el faenado. Uno de los pasos más críticos para la contaminación de la carne es el eviscerado como el amarre del recto.

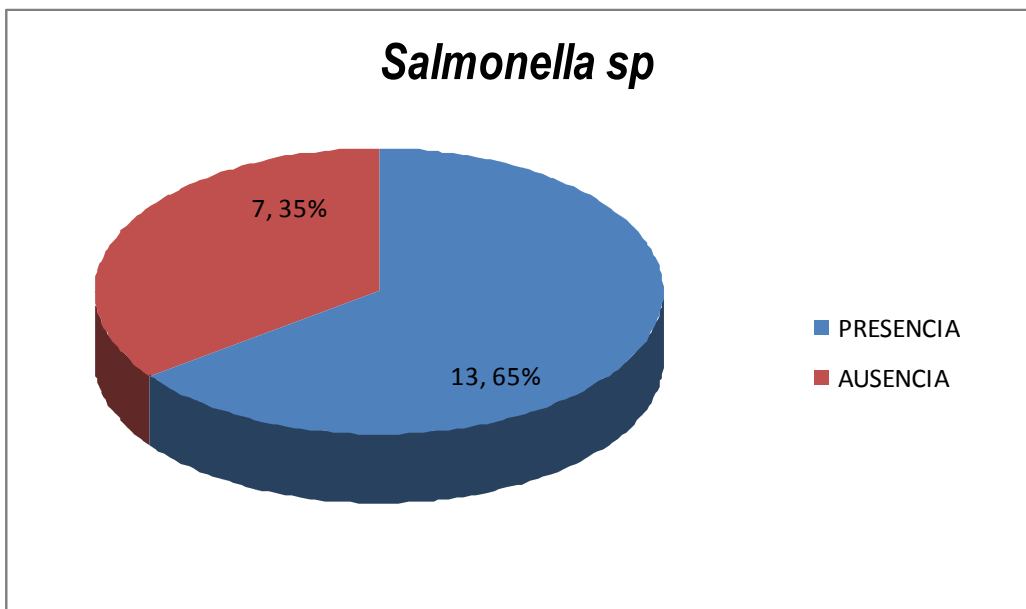


Figura 12. Resultados de la presencia y ausencia de *Salmonella sp* en carne de cerdo.

La figura N° 12 expresa la presencia y ausencia de *Salmonella sp* en carne de cerdo, apreciando que, del total de veinte muestras, siete tienen ausencia de la bacteria que representan un 35% muestras negativas, mientras que hay presencia en trece muestras que representa el 65% del total muestras analizadas.

El proceso de sacrificio es el factor más importante con la entrada de los cerdos colonizados por *Salmonella* con la subsecuente contaminación de la canal. Los cerdos pueden infectarse durante el transporte o en los corrales de espera. En el proceso de sacrificio, en el paso de la evisceración puede haber ruptura del intestino o en momento del amarre del recto y puede haber contaminación cruzada de las canales adyacentes por salpicaduras, inadecuada manipulación y contacto con las superficies contaminadas. El crecimiento bacteriano puede producirse por la falta de un cuarto frío ya que las temperaturas de refrigeración no se mantienen por debajo de los 7°C.

Se han realizado estudios que muestran que la mejora de la higiene durante la faena tiene un efecto positivo sobre la reducción de Salmonella. La mejora podría consistir en escaldar los cuchillos, aumentar la frecuencia de lavado de manos, realizar la inspección visual de la carne, así como la desinfección adecuadamente y mejorar la precisión de la división de la canal.

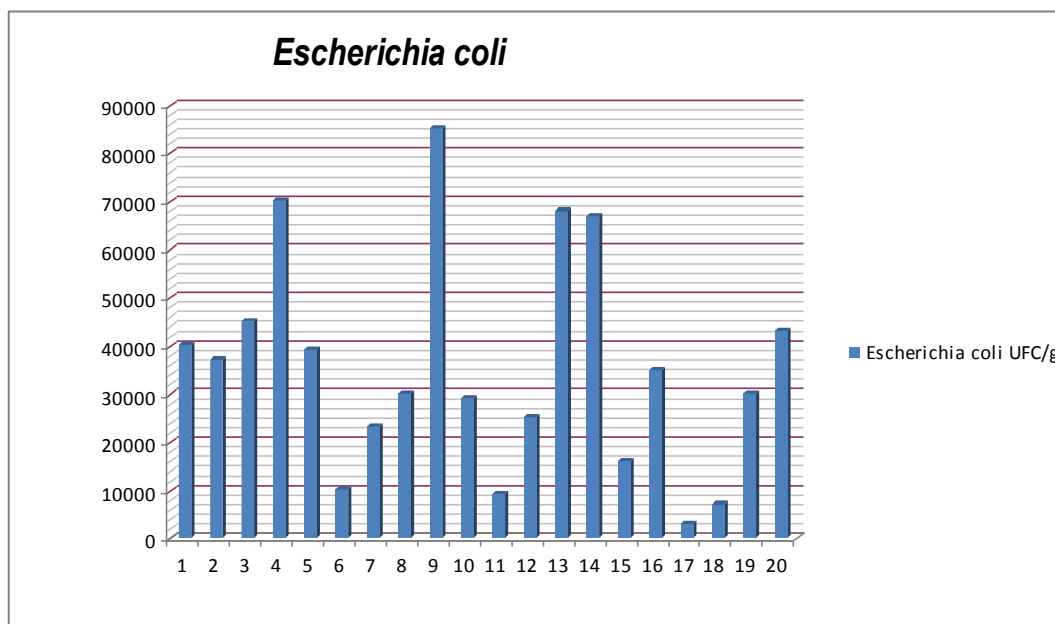


Figura 13. Resultados de unidades formadoras de colonia por gramo de *E.coli* en de cerdo

La figura N° 13 expresa la cantidad de UFC/g en veinte muestras de carne de cerdo, representando que todas las muestras son positivas a *Escherichia coli*, siendo la muestra número nueve con la mayor cantidad de UFC/g y la muestra número diecisiete la de menor cantidad de UFC/g.

La presencia de este microorganismo en la carne está asociada a deficiencias higiénicas sanitarias en el proceso del sacrificio algunos de los pasos en los cuales puede haber contacto con el patógeno son: remoción de la piel, evisceración, corte de la carne con utensilios contaminados y manipuladores con prácticas deficientes de higiene, por ser al igual que los animales mamíferos un reservorio natural de este

microorganismo; por lo cual se puede presumir que puede haber contaminación cruzada entre utensilios y manipuladores.

Cuadro N°6. Resumen de resultados obtenidos respecto a la contaminación de la carne de bovino con las bacterias *L.monocytogenes*, *Salmonella sp* y *Escherichia coli*.

Identificación de la muestra	<i>L. monocytogenes</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Escherichia coli</i>
	AUSENCIA/ 25g	*AUSENCIA/ 25g	*10g UFC/g
B1	Presencia	Presencia	30000
B2	Ausencia	Presencia	38000
B3	Ausencia	Ausencia	60000
B4	Presencia	Ausencia	30000
B5	Ausencia	Presencia	9000
B6	Ausencia	Presencia	19000
B7	Ausencia	Presencia	31000
B8	Ausencia	Presencia	27000
B9	Ausencia	Presencia	48000
B10	Presencia	Presencia	2000
B11	Presencia	Ausencia	10000
B12	Ausencia	Presencia	10000
B13	Ausencia	Presencia	65000
B14	Ausencia	Ausencia	60000
B15	Presencia	Presencia	8000
B16	Presencia	Presencia	57000
B17	Presencia	Presencia	26000
B18	Ausencia	Ausencia	17000
B19	Ausencia	Presencia	8000
B20	Ausencia	Ausencia	50000
B= bovino			
*Limites de acuerdo a RTCA 8.0 Grupo de alimentos: Carnes y Productos Cárnicos			

El presente cuadro expresa los resultados obtenidos referentes a la contaminación en la carne de bovino con *L.monocytogenes* en el que se aprecia que 7 muestra positivas, así para *Salmonella sp* 14 positivas y para *E.coli* todas las muestras son positivas a dicho microorganismo.

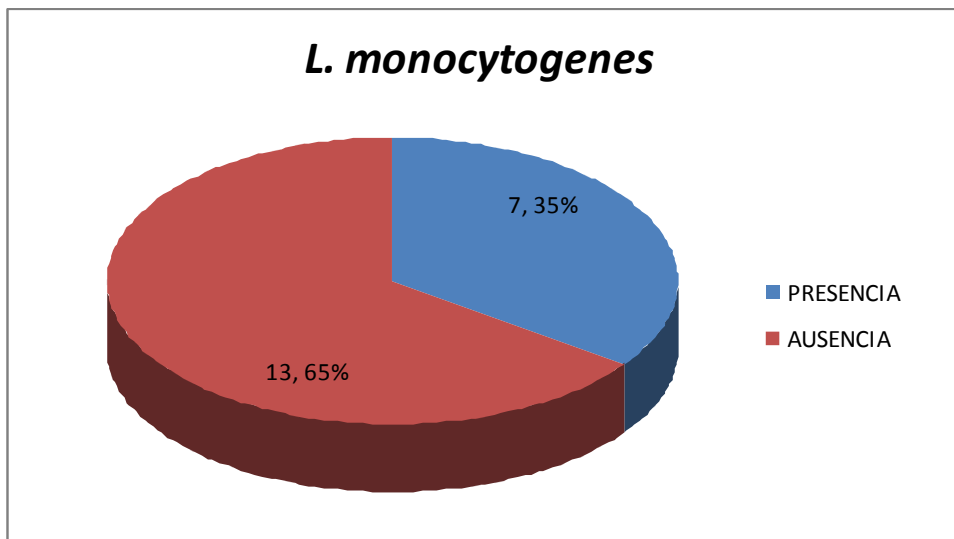


Figura 14. Resultados de la presencia y ausencia de *L.monocytogenes* en carne de bovino.

La figura N° 14 muestra la presencia y ausencia de *L.monocytogenes* en carne de bovino, apreciando que, del total de veinte muestras, siete tienen presencia de la bacteria que representa un 35% muestras positivas, mientras que hay ausencia en trece muestras que representa el 65% del total de muestras analizadas.

Los hallazgos encontrados son los siguientes: los animales que son faenados en el rastro de Santa Ana, permanecen en los corrales por mucho tiempo lo que permite que las bacterias en la superficie de la piel de los animales permanezcan en ellos, además no les dan el baño correspondiente en el corral antes del sacrificio que se realiza para disminuir la cantidad de bacterias que están en la superficie del animal.

Además, al hacer el recorrido en el pasillo antes del sacrificio para ser llevados al área de insensibilización, los animales no reciben un trato adecuado ya que son muy estresados al ser guiados a esta área y esto no permite la liberación de ácido láctico por lo que contribuye a la multiplicación de las bacterias en la carne al momento del faenado.

Al no realizar una inspección ante mortem por un profesional calificado no se puede descartar que los animales estén enfermos y estén contaminados de *L.monocytogenes* antes de ingresar a los corrales de ayuno.

La falta de aplicación de las Buenas Prácticas de Faena e Higiéno Sanitarias en el proceso de sacrificio favorecen a que se creen condiciones adecuadas de temperatura, pH y los nutrientes de la carne permiten el crecimiento óptimo y multiplicación de patógenos como *Listeria monocytogenes*.

Los rumiantes domésticos juegan un gran papel en el mantenimiento de *Listeria sp.* en el medio rural, mientras 2-10% de las personas son portadoras de *Listeria Monocytogenes* en heces sin, aparentemente, efectos adversos en su salud.

Un número elevado de animales de abasto (11-52%) se consideran portadores sanos. En mataderos, la presencia de *L.monocytogenes* puede ser endémica, particularmente en suelos.

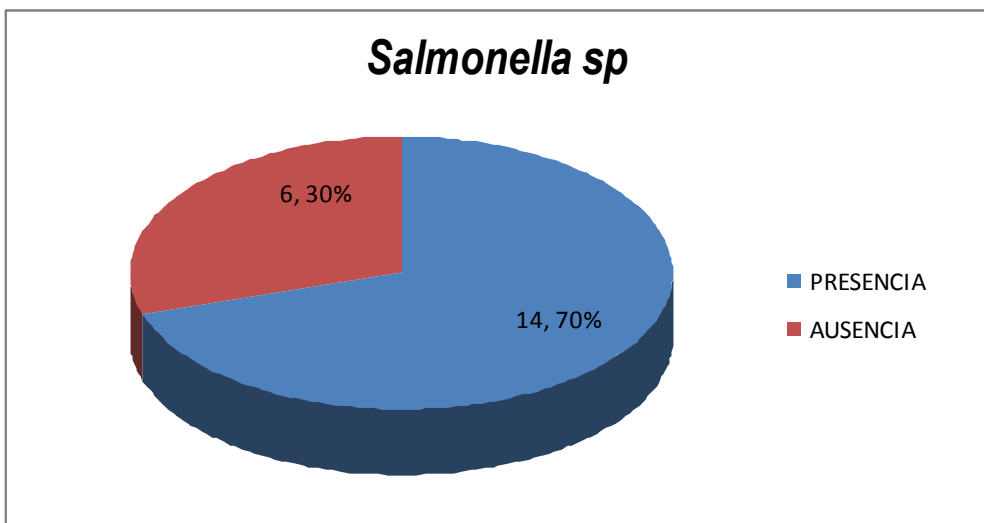


Figura 15. Resultados de la presencia y ausencia de *Salmonella sp* en carne de bovino.

La Figura N°15 expresa la presencia o ausencia de *Salmonella sp* en carne de bovino, apreciando que, del total de veinte muestras, catorce fueron positivas a la

presencia de la bacteria que representan un 70%, mientras que hay ausencia de seis muestras que representa el 30% del total de muestras analizadas.

Tenemos los hallazgos siguientes Las pieles del ganado son la fuente primaria de contaminación con *Salmonella* en la de la superficie de las canales durante el procesamiento. Estudios recientes han identificado otra fuente potencial de *S. entérica* en la cadena de la carne de bovino ya que los recortes de grasa contienen nódulos linfáticos contaminados. Los nódulos funcionan como un mecanismo de filtración para secuestrar bacterias, virus, y otros agentes infecciosos para la eventual destrucción hecha por los linfocitos

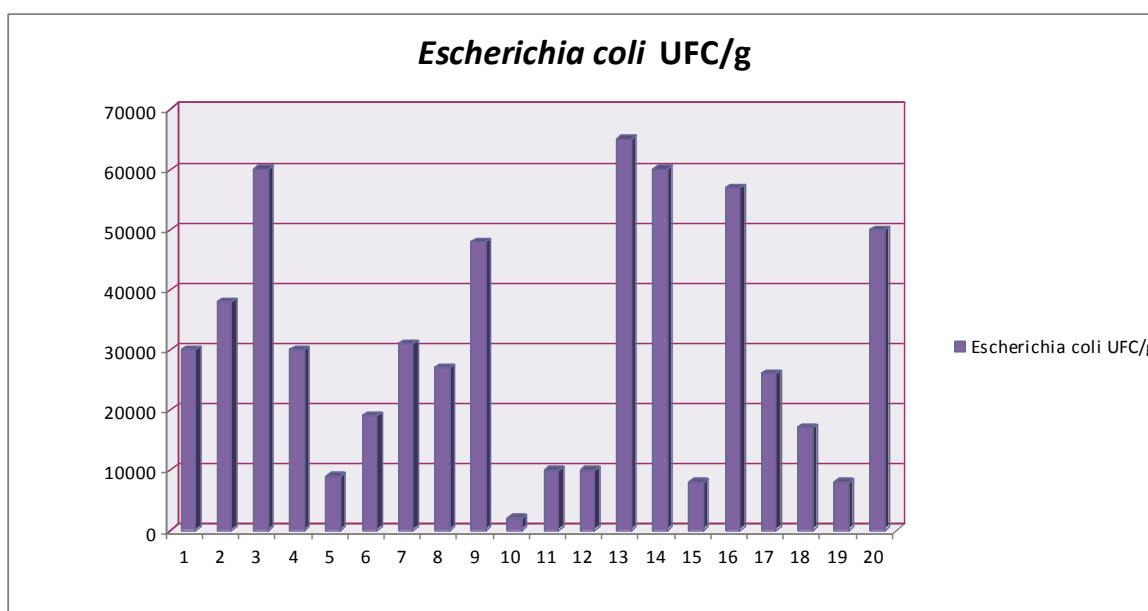


Figura 16. Resultados de unidades formadoras de colonia por gramo de *E.coli* carne de bovino.

La figura N°16 expresa la cantidad de UFC/g en muestras de carne de bovino, representando que todas las muestras son positivas a *Escherichia coli*, siendo la muestra número trece la que presenta mayor cantidad de UFC/g y la muestra número diez la de menor cantidad de UFC/g.

Los hallazgos son los siguientes: los rumiantes, en particular el ganado, han sido identificados especialmente como el reservorio natural. A pesar de que se sabe que

algunas cepas producen diarrea en terneros, otras parecen ser comensales inofensivos del intestino de los animales y no provocan enfermedades clínicas. No obstante, la carne fresca y la leche cruda se consideran como los vehículos comunes de la *E. coli*.

La contaminación de la carne generalmente se produce durante el sacrificio de los animales, como resultado de malas prácticas de faenado, higiene de los mataderos y manipulación de los animales. Por lo tanto, las prácticas en los mataderos que con mayor frecuencia contaminan la carne incluyen: eliminación de la piel de los animales, derrames del intestino de los animales y condiciones sanitarias generales en los mataderos

Cuadro N° 7 Resultados de *L. monocytogenes* es utensilios, mesa multi uso y pared en la sala de matanza de Santa Ana.

Puntos de recolección	Inicio de la faena	Final de la faena
Cuchillos	Ausencia	Ausencia
Ganchos	Ausencia	Ausencia
Tabla de corte de pieza	Ausencia	Ausencia
Pared	Ausencia	Ausencia
Mesa multi usos	Ausencia	Ausencia

El cuadro N° 7 expresa la importancia en los rastros de medir la contaminación *L. monocytogenes* en las superficies, utensilios y ambiente en la cual se hace el sacrificio de los animales de abasto ya que este microorganismo puede formar biopelículas que pueden perdurar y adherirse por muchos años en estos utensilios. Así pues, los resultados de esta investigación en los diferentes puntos de muestreo ganchos, cuchillos, tabla de corte de piezas, mesa multi uso y pared que se tomaron en la sala de matanza de Santa Ana fueron negativos a *L. monocytogenes*, por lo que esta no genero la contaminación que los animales faenados presentaron.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA



MAESTRIA EN MICROBIOLOGÍA E INOCUIDAD DE ALIMENTOS

Guía de Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias.

ELABORADO POR:

MVZ. ROSY FRANCIS ALVARENGA
LICDA. KAREN PATRICIA RODRÍGUEZ DE ALVAREZ

INDICE

Contenido	Pagina
1.0 Introducción	80
2.0 Objetivos	81
3.0 Marco Teórico	82
3.1 Infraestructura	82
3.2 Equipo de Seguridad	82
3.3 Operadores	82
3.4 Recepción de Ganado	83
3.5 Preparación de los bovinos para la matanza	83
3.6 Conducción al área de matanza	84
3.7 Aturdimiento	84
3.8 Método de aturdimiento para bovinos	85
3.9 Desangrado	86
3.10 Despielado	87
3.11 Evisceración	88
3.12 Verificación Post mortem	89
3.13 Área de refrigeración	90
3.14 Abastecimiento de agua	90
3.15 Iluminación	91
3.16 Drenaje	91
3.17 Disposición de basura y desperdicios	91

3.18 Ventilación	91
3.19 Vestidores y baños	92
3.20 Instalaciones de lavado de manos	92
3.21 Instalaciones de desinfección	92
3.22 Programa de limpieza y desinfección en áreas y equipos	92
3.23 Control de fauna nociva	93
4.0 Conclusiones	94
5.0 Recomendaciones	94

1.0 INTRODUCCION

Todos los rastros o mataderos deberán seguir los requisitos sobre la higiene de la carne, el encargado del establecimiento (matadero) deberá tener la responsabilidad de producir carne que sea inocua e idónea conforme a los requisitos que dictan las autoridades competentes de la región. Los programas sobre higiene de la carne deberán tener como principal objetivo la protección de la salud pública y deberán basar sus decisiones en la evaluación científica sobre los posibles riesgos a la salud humana y considerar todos los peligros alimenticios, identificados en investigaciones, monitoreo y otras actividades de relevancia.

Los rastros que no cumplan con los requisitos o lineamiento deberán de buscar las formas de adecuarse a dichos lineamientos para seguir funcionando ya que los rastros constituyen el primer eslabón de la industria cárnica, porque en ellos se obtiene a partir de animales vivos, la carne para consumo humano, por lo que deben de funcionar con los estándares de calidad y las instalaciones deben de reunir los requerimientos de operación adecuados, de tal manera que se asegure la salud de la población y la protección del medio ambiente.

Esta guía está diseñada para proporcionar una referencia rápida a las buenas prácticas y evita el texto largo normalmente encontrado en documentos regulativos, esta guía no es sustituto para ninguna regulación que se aplique.

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

Contribuir con los rastros nacionales para que aplique Buenas Prácticas de Faena e Higiene para apoyar a la salud pública.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

2.2.1 Identificar los procesos que se llevan a cabo en la faena para controlar

agentes biológicos que puedan afectar la inocuidad de la carne.

2.2.2 Describir la infraestructura adecuada que debe de tener la sala de

matanza.

2.2.3 Explicar los procesos que deben de tener los operadores para disminuir

la contaminación de la carne.

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Infraestructura

El rastro debe contar con las siguientes áreas: rampas para embarque y desembarque, pasillos, corrales de descanso, rampas de acceso a la zona de matanza, áreas de sacrificio, áreas de verificación sanitaria, área de refrigeración, congelación y área de decomisos, área de lavado y desinfección de vehículos, área para el tratamiento de cueros, área de taller y mantenimiento de equipo, oficinas administrativas y bodega.

Todas estas instalaciones deben construirse con un diseño funcional que facilite el manejo y que favorezca el bienestar animal.

3.2 Equipo de seguridad

Todos los trabajadores del Rastro deberán utilizar el equipo de seguridad que consta de: botas de plástico antiderrapante, mandil de plástico, casco de seguridad, además los otros que la administración del rastro crea convenientes.

3.3 Operadores

Los puestos de trabajos en el área de sacrificio deben disponer de acceso a un esterilizador de equipo del personal con abastecimiento de agua caliente a 82°C y deben de tener un lavamanos de pedal con disposición de jabón y toallas desechables. Los operadores deben de desinfectar y/o esterilizar todos los instrumentos utilizados en la faena preferiblemente después del uso con cada animal faenado. Deberán tener varios equipos de faena para poder esterilizar y cambiarlos por cada animal.

Los operadores deberán de cambiarse su ropa de calle y usar un uniforme con todo el equipo de seguridad, debe de tener buenos hábitos durante el proceso de faenado como no comer, fumar, no escupir, así como también estar atento a no hacer ninguna practica que pueda contribuir al incremento de la contaminación de las canales.

El encargado del rastro deberá de mandar a realizar a los operadores exámenes médicos generales con el fin de que ellos no puedan servir de vectores de enfermedades, así como también si están enfermos no deben de estar en su lugar de trabajo.

3.4 Recepción del ganado

El Ganado deberá de ingresar a los corrales del Rastro Municipal 24 horas como mínimo y hasta 72 horas antes del sacrificio en bovinos; y 12 horas hasta 24 horas antes del sacrificio en porcinos, el tiempo de reposo podrá reducirse a la mitad del mínimo señalado, cuando el ganado provenga de lugares cuya distancia sea menor de 50 Kilómetros.

En la estancia de los animales en el corral de recepción, no debe de recibir alimento, solo debe contar con agua limpia para beber.

En los corrales del Rastro se realizará la primer inspección o inspección ante mortem, la realizara el Médico Veterinario Zootecnista, donde se separarán los animales que se vean sospechosos o afectados por alguna enfermedad y se decidirá el orden que seguirá el sacrificio de los animales.

3.5 Preparación de los bovinos para la matanza

En el momento de la matanza los animales deben estar sanos y haber descansado adecuadamente (2 a 4 horas), y especialmente si han viajado durante muchas horas (más de 12), a altas temperaturas (más de 33°C), largas distancias o caminos de terracería. El período de descanso permite identificar a los animales lesionados o estresados durante el viaje, poner en cuarentena a los enfermos y recuperar su glucógeno muscular. Sin embargo, es recomendable que se maten a su llegada cuando las distancias o tiempos son cortos (4 h máximo), ya que el encierro en los corrales del rastro se convierte en un evento muy estresante para ellos. Los animales deberán recibir un baño por aspersion antes del proceso de faenado.

3.6 Conducción al área de matanza

En la conducción final por la manga hacia el cajón de aturdimiento, los animales deben de moverse tranquilamente, en un ambiente sin ruido, en una sola fila, el pasillo debe ser lo suficientemente alto para que los animales no puedan tener visibilidad hacia los lados esto con el fin de evitarles estrés (Figura N°1). Para agilizar el movimiento de los animales se pueden utilizar unas correas planas de lona, un plástico, o periódico enrollado. Jamás se debe golpear al animal, ni torcerle la cola, para que camine.



Figura N° 1 Pasillos para animales que se dirigen al cajón de aturdimiento

3.7 Aturdimiento

Es muy importante que los animales destinados al abasto sean apropiadamente inmovilizados antes del aturdimiento y del desangrado. Esto tiene como objetivo asegurar la estabilidad del animal para que la aplicación del método de aturdimiento se realice correctamente.

Los animales deben entrar al área de aturdimiento en una sola fila para colocarlos en el cajón de sujeción antes del aturdimiento, que es el espacio donde se inmovilizan individualmente para su insensibilización antes de causarles la muerte. El cajón debe ser lo suficientemente angosto para evitar que el animal dé la vuelta,

lo cual dificultaría su aturdimiento. El piso del cajón debe ser antiderrapante, ya que esto le da seguridad y tranquiliza a los animales.

El aturdimiento es el acto a través del cual se provoca en el animal la pérdida de conciencia previo a causarle la muerte. La norma NOM-033 ZOO 1995, exige que los animales estén inconscientes antes de su muerte, con el fin de evitarles miedo, dolor y estrés.

El animal debe estar insensible el tiempo suficiente para que el desangrado ocasione una muerte rápida por falta de oxígeno al cerebro (anoxia cerebral). El aturdimiento debe tener un periodo de tiempo prudencial para que no haya contaminación cruzada entre animal y animal.

3.8 Método de aturdimiento para bovinos

El método para lograr la inconsciencia de los bovinos de abasto es mecánico de perno cautivo, y éste puede ser de penetración o de concusión; este método en algunos países ya está prohibido debido a que daña el cerebro, lo que puede provocar que células nerviosas alcancen la circulación general, que en el caso de la Encefalopatía espongiforme bovina (BSE, vacas locas), sería muy peligroso, ya que aumenta el riesgo del consumo de priones.

El aturdimiento mecánico se realiza con un instrumento o una pistola de perno cautivo, que es accionada por la detonación de cartucho de salva, o por aire comprimido. Este impulso desplaza al perno por el cañón a una velocidad de 1.3 a 1.5 milisegundos (Figura N°2).



Figura N°2 Método de aturdimiento para bovino con pistola de perno cautivo.

3.9 Desangrado

El desangrado es la parte del proceso en que se cortan los principales vasos sanguíneos del cuello para permitir que la sangre drene del cuerpo, produciéndose la muerte por anoxia cerebral. El cuchillo del desangrado es un cuchillo largo (hoja de 25 a 30 cm), se debe afilar continuamente. Las incisiones deben ser rápidas y precisas. El método para desangrar ganado vacuno es haciendo un corte profundo en un ángulo de 45 grados en la parte media del cuello con el objeto de cortar vena yugular y la arteria carótida (Figura N°3). En todos los cortes, la yugular y la carótida se debe cortar por completo. Si algunos de los vasos no se cortan, el desangrado será incompleto, quedando retenida gran cantidad de sangre en los tejidos, ocasionando que la carne se descomponga antes de tiempo, disminuyendo su vida de anaquel y aumentando el riesgo sanitario, ya que la carne con más cantidad de sangre se contamina con más facilidad, y permite el crecimiento bacteriano más rápido en todo el músculo y su rápido deterioro. Existe otra arteria que es importante cortar, que es la vertebral, que va paralela al cuello; esta arteria en bovinos al igual que la carótida, irriga todo el encéfalo. El corte se hace por debajo de la oreja y siguiendo el borde posterior de la rama mandibular. El animal debe de ser colgado para un mejor desangrado por gravedad.

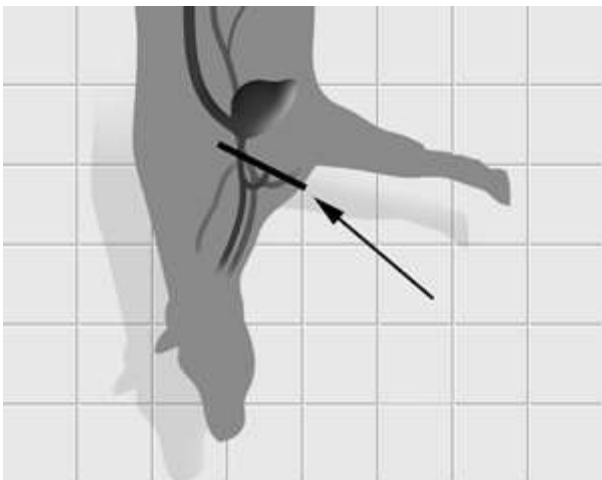


Figura N°3 Método de desangrado en bovinos

3.10 Despielado

Se retira la cabeza se procederá a la inspección que realizará el médico veterinario. En la plataforma de transferencia se procede a quitar patas traseras (Figura N°4), ligar el ano para evitar la salida de contenido intestinal y se continúa con el despielado (Figura N°5)

Se termina de despielar en las plataformas o con despieladora, según sea el caso.



Figura N°4 Plataformas de transferencia



Figura N°5 Proceso de despielado

3.11 Evisceración

Se separan vísceras verdes y vísceras rojas, se corta el pecho ya sea con sierra o hacha con mango de plástico (Figura N°6). Las vísceras se enjuagarán para su posterior inspección por el médico sanitarista y dictamine si van para el consumo, se decomisan total o parcialmente.

Se continuará trabajando con las vísceras según sea el caso particular de cada rastro se lavarán a fondo o solo un enjuague para quitar contenido y residuos.

Se continúan con la línea de sacrificio y se procede a la división de canal o cuartos según sea el caso y se realizara con sierra de canal o con hacha de plástico según sea el caso. Todo este proceso debe ser con plataformas de tipo mecánico y debe de ser aéreo.



Figura N° 6 Proceso de evisceración

3.12 Verificación post mortem

El médico veterinario hace la inspección para verificar si ese animal no tiene alguna enfermedad que ponga en riesgo la salud humana. Verifica la canal, vísceras y cabeza de cada uno de los animales (Figura N°7 y N°8).



Figura N° 7 Verificación de la canal



Figura N°8 Verificación de la canal

3.13 Área de refrigeración

Desde que el animal entra en un rastro, es sacrificado, desmembrado y sus partes son envasadas para el consumo, existe un camino de frío, que se debe seguir para lograr un producto de calidad. Esa ruta está equipada con diversas tecnologías, como son las cámaras frigoríficas o túneles de enfriamiento. El área de refrigeración deberá de tener temperaturas óptimas para la conservación de la carne y deberán de estar diseñadas de acuerdo al número de canales que conservara día a día y del tiempo de permanencia de la canal.

3.14 Abastecimiento de agua

Será a través de los sistemas públicos municipales, de no existir tendrá que tener abastecimiento de agua propio por tuberías, se debe de garantizar que sea agua potable mediante la determinación de cloro residual cada cuatro horas durante el proceso (aproximadamente una parte por millón) también deberán hacerse exámenes bacteriológicos al agua por lo menos una vez al mes.

3.15 Iluminación

Todas las áreas del rastro deberán de tener iluminación natural o artificial adecuada y que no deberá alterar los colores. Todos los focos y lámparas en el área de procesamiento deben contar con cubiertas de acrílico, para evitar la contaminación de la carne en caso de ruptura.

3.16 Drenaje

Deben de estar diseñados de tal forma que los desechos sean drenados de inmediato, porque su acumulación dificulta la operación, limpieza y provocan la contaminación. Los rastros deben de tener drenaje por separados para los sanitarios, áreas de sacrificio, para drenar sangre y otros para drenar líquido gastrointestinal.

Las líneas de drenaje deben de estar ventiladas, comunicar con el exterior y cubiertas con tela de alambre para evitar el paso de roedores.

3.17 Disposición de basura y desperdicios

Los productos de decomiso o desechos orgánicos del ganado (como pelos, pezuñas, restos de tejido y otros) deberán ser separados de la basura y asegurar que su destino final sea la incineración o enterramiento. El procedimiento, equipo utilizado y manejo de desechos serán acorde a las leyes de salubridad locales.

3.18 Ventilación

El diseño de un buen sistema de ventilación está en relación estrecha con la higiene del rastro. Este sistema será adecuado para evitar el calor excesivo, la condensación de vapor y el polvo a fin que permita la entrada de aire fresco para eliminar el aire contaminado. La dirección de la corriente nunca será de un área sucia a una limpia.

El aire que sea distribuido a las áreas de trabajo no debe de estar contaminado por malos olores, polvo, humo, los inyectores deben de estar provistos de filtros que eliminen insectos y polvo.

3.19 Vestidores y baños

El rastro debe de contar con vestidores para que los empleados se cambien la ropa de calle por los uniformes. Debe de estar dotados de mobiliarios, regaderas y de lockers de acuerdo al número de empleados. Es importante que haya suficientes sanitarios, junto a los vestidores y deben de estar bien ventilados con el fin de que no ingresen malos olores a la planta.

3.20 Instalaciones para lavado de manos

Colocar suficientes lavamanos operados con pedales dentro o inmediatamente adyacente a los sanitarios. Se deben de colocar lavados en el área de sacrificio, además de los colocados en los sanitarios, la cantidad de lavamanos debe de ser de acuerdo al número de empleados.

3.21 Instalaciones de desinfección

Debe de existir un área anexa a la del sacrificio para el lavado y desinfección de equipo; esta deberá esta ventilada y sus vapores y aerosoles no deberán de pasar al área de proceso los productos químicos deberán de utilizarse de acuerdo a las normas del fabricante y leyes del medio ambiente.

3.22 Programa de limpieza y desinfección en áreas y equipo

Debe de ser liderado por una persona responsable para evaluar su efectividad. La ejecución de este programa recaerá en el personal de producción y mantenimiento de cada área del rastro.

La limpieza de estos establecimientos depende de diversos factores que incluyen el diseño sanitario de instalaciones, equipo y el volumen de operaciones.

Es necesaria una dotación de agua caliente en el rastro para remover, eliminar la grasa y materiales orgánicos en pisos, paredes y equipos.

Los carros de verificación, cuchillería, ganchos, deben de ser lavado en áreas independientes al procesamiento de productos, en donde debe de existir agua caliente con una temperatura mayor o igual a 82 °C.

3.23 Control de fauna nociva

Debe realizarse por un profesional especializado, una empresa que cuente con licencia sanitaria.

Se debe hacer un manejo integrado, no sólo con productos químicos, sino con un buen manejo de residuos y buenas prácticas de higiene. Si no se eliminan todas las fuentes que generan la presencia de roedores y otras plagas, nunca se van a poder controlar.

Los productos que a utilizar deben estar fuera del área de proceso para evitar cualquier tipo de contaminación cruzada con productos cárnicos y utensilios o instalaciones.

4.0 CONCLUSIONES

Todos los procesos que se realizan en las salas de matanza deben de cumplir con requisitos legales, de seguridad e higiene.

Las personas que están dedicadas al manejo y a la matanza de los animales de abasto tienen una gran responsabilidad para que la carne que llegue a los consumidores tenga calidad e inocuidad.

Las consecuencias de un proceso de matanza inadecuado con llevan a una mala calidad e inocuidad de la carne.

Con un manejo adecuado de los animales estarán menos nerviosos libres de estrés lo cual contribuye a la seguridad de los operadores ya que se reducen los riesgos de accidentes provocados por los animales.

5.0 RECOMENDACIONES

Cumplir todos los requisitos legales de la región que se deben de seguir para registrar una sala de matanza.

La sala de matanza deberá de tener un manual de proceso que deberán de seguir los operadores.

Con el cumplimiento de todos los procesos establecidos en la sala de matanza se obtendrá carne con calidad e inocuidad.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 Conclusiones

1. La información expuesta en este estudio sienta un precedente sobre la contaminación de las bacterias *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*. en la carne de bovino y cerdo en el rastro de Santa Ana ya que se demostró que existe contaminación.
2. Al analizar 20 muestras de carne de bovino y la misma cantidad en cerdos, esto reflejo que la carne de bovino presento una mayor contaminación a *L.monocytogenes*, *Salmonella sp* presenta una mayor contaminación en carne de bovino y en la carne de cerdo tiene mayor contaminación con *Escherichia coli*.
3. En los resultados obtenidos en la investigación se demostró que, de las tres bacterias analizadas, *Escherichia coli* presento mayor contaminación en ambas carnes.
4. La sala de matanza de Santa Ana no cuenta con Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias al momento del sacrificio por lo que esto contribuye a la contaminación de la carne de cerdo y bovino.
5. La bacteria *Listeria monocytogenes* no se aisló de utensilios como cuchillos, ganchos, tabla de corte de piezas, así como tampoco de mesa multi uso y pared, muestreados dentro de la sala de matanza de Santa Ana.
6. La prevención y el control efectivo de la contaminación en los mataderos exige la aplicación de buenas prácticas de higiene, de prácticas de gestión basadas en el Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC).

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 Recomendaciones

1. Implementar Buenas Prácticas de Faena e higiénico Sanitarias al momento del sacrificio de cualquier especie animal.
2. Realizar inspección ante mortem y post mortem para verificar la salud de los animales que están destinados al sacrificio.
3. Mejorar las instalaciones del rastro, para que el sacrificio de los animales se realice con métodos mecánicos y que esto contribuya a disminuir la contaminación de bacterias.
4. Aplicar prácticas de inspección de carnes basada en riesgos para minimizar la contaminación fecal de las carcasas.
5. Dar los utensilios e indumentaria necesaria al personal del rastro para contribuir a la disminución de la contaminación de las bacterias de interés en salud Pública.
6. Dar un mejor trato a los animales para disminuir el estrés que estos sufren en el proceso de sacrificio para contribuir al bienestar animal, inocuidad y calidad de la carne.
7. Realizar muestreos al azar para determinar la contaminación de bacterias de interés en salud pública.
8. Difundir la información con instituciones idóneas para verificar la contaminación de bacterias en otros rastros municipales.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Baños Sanabria A, Miranda Hernández V, Ramos Hernandez L. 2005 Análisis y propuesta de mejoras para los procesos administrativos del rastro municipal de santa tecla 2005, (consultada el 30 de mayo de 2014). recupera en:<http://www.webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/.../TESIS/01/.../ADBA0000857>
- 2- Bacteriological Analytical Manual, 2011. (consultada 10 de enero de 2014). recuperada:<http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm>
- 3- Bacteriological Analytical Manual 2016. Métodos analíticos. (consultada 10 de febrero de 2016)recuperada <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorimethods/ucm2006949.htm>
- 4- Barahona. J. C. 2011 (consultado 27 de junio de 2017). Recuperado en http://www.la_prensa_grafica.com/el.slavador/departamentos/220076-alcaldia-busca-concesiones.rastros
- 5- Consejo de ministros de integración económica centroamericana.2009 Reglamento Técnico Centroamericano: alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Ministerio de salud, San Salvador,El Salvador.(se)
- 6- Canet.J.J 2016. *Escherichia coli* características, patogenicidad y prevención.(consultado 15 de junio de 2017) recuperado en

- www.betelgeux.es/blog/2016/01/19escherichia.coli.caracteristicas.patogenicidad.y.prevencion.//
- 7- Eley, AR. 1994. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana, Zaragoza, España. ACRIBIA
 - 8- Favila, L.C.2003. Principales contaminantes de la carne del Rastro a su consumo.(consultado 10 de marzo de 2017) recuperado en <http://www.comitepecuario.com/Ponencias/Principales%20Contaminantea%20Del%20Rastro%20A%20Su%20Consumo.pdf>.
 - 9- Fundación Vasca para la Seguridad Agroalimentaria.2006. Listeria monocytogenes (consultado 10 de marzo de 2017) recuperado en <http://www.elika.eus/datos/pdfsagrupados/documentos85/copia%20%204.listeria.pdf>
 - 10-Godínez, G.2007.Microbiología en Cuatro Rastros Municipales de Estado de Hidalgo (sd).(consultado 12 de marzo de 2017). recuperado en <https://www.google.com/sv/webhp?sourceid=chromeinstant#ion=1espv=2#=UTF>
 - 11-Heredia, N, (ed).2014.Productos Cárnicos Principales Patógenos y Estrategias no térmicas de control (consultado 13 de marzo de 2017) recuperado en <http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v88s1/nacamehv8s12042heredia-et al.pdf>
 - 12- Hernandez A.S. 2013.incidencia de *Escherichia coli* O157 y *Salmonella* sp en carne de bovino comercializada en Texcoco (consultado el 13 de marzo de 2017)recuperadoenhttps://chapingo.mx/produccionanimal/administrador/components/com_jresearch/files/theses/PPA_MC0461113RGP-SHA.pdf

- 13-Hooper, D. W.;Greenwood,M.Microbiologia practica de los alimentos.1995.Zaragoza,España.ACRIBIA
- 14-International Commission on Microbiological Specifications for foods. 2000.Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España. ACRIBIA.
- 15-Jay, JM; Loessner, MJ; Golden, DA.2005 Microbiología Moderna de los Alimentos. Zaragoza, España. ACRIBIA. 2005.
- 16-Lizano M, Pérez R, sanidad e inocuidad pecuaria en Centro América y Republica Dominicana, 2012. (consultada 9 de enero de 2014) recuperada http://www.ruta.org/docs_Estudio_Sanidad_Inocuidad_/Informe%20Naciona l%20El20Salvador.pdf.
- 17-Marutin L, Bacteriological analytical manual.2001. (consultada 15 de diciembre de 2013) recuperada <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm072661.htm>.
- 18-Meléndez García R.A. 2012.Principales Riesgos Microbiológicos de los productos cárnicos crudos-curados envasados en atmosferas modificadas y/o vacío de interés económicos en “Catilla y León”. Universidad de León tesis doctoral.
- 19-Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales Plan Nacional para Construcción y Mejoramiento de rastros Municipales 2010 (consultada el 30 de mayo de 2014).se recupera en http://www.marn.gob.sv/phocadownload/presentacion_plan_nacional_rastro s.pdf.

- 20-Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2014.Lineamientos para el diseño de rastros y mataderos (consultada 27 de junio de 2017) recuperado en <http://www.marn.gob.sv/wp-mataderos.pdf>.
- 21-Mouwen J.Prieto M.1998.Aplicacion del sistema Aricpc-HACCP a la Industria cárnica.España.Published.
- 22-Navarro R. B. 2016.*Escherichia coli* características, patogenicidad prevención. (consultado 15 de junio de 2017) recuperado en www.betelgeux.es/blog/2017/02/14/539.//
- 23-Official Methods AOAC 991.14,2005 Coliform and *Escherichia coli* Counts in Food:MÉTODO PETRIFILM.(consultada el 10 de enero de 2014). Recuperada en <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=46949>
- 24-Organización Mundial de la Salud,2015. (consultada 12 de enero de 2014). recuperada en [hptt://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/esl](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/esl).
- 25-Reglamento Técnico Centroamericano (2009),(consultado 16 de juniode2017)recuperadownwww.ccit.hn/wpcontent/uploads/2014/08/anexos.resolucion-N-283-2012-aditivos.alimentarios.pdf
- 26-Roberts, D; Hooper, W; Greenwood, M. 1995 Microbiología práctica de los alimentos. Zaragoza, España.ACRIBIA
- 27-Sánchez del Olmo A. 2012. Evaluación del efecto antimicrobiano de la lactoferrina bovina y sus derivados y su combinación con altas presiones,

sobre patógenos y alterantes de la carne y productos cárnicos. Universidad Complutense de Madrid. España.

28-SENASICA. (nd), Manual de Buenas Prácticas de Manufactura y Procedimientos Operacionales de Sanitización Estándar, dirigida a la industria de empacadoras NOTIF de carnes frías y embutidos. (consultada 10 de junio de 2017) se recupera en: www.sagarpa.gob.mx.

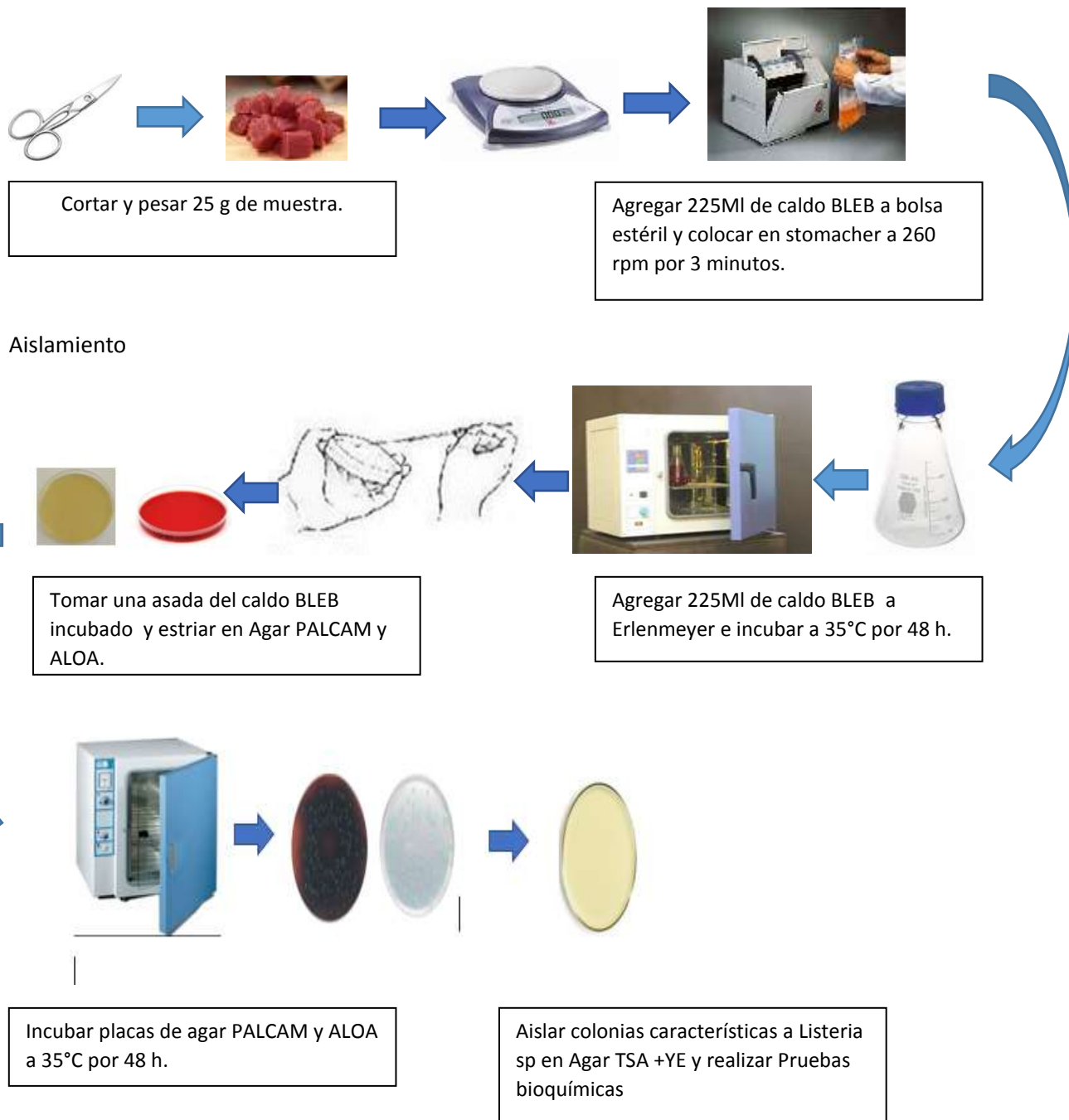
29-STANCHI NO,2007, Microbiología veterinaria, Buenos aires, Argentina, INTERMEDIA.

30-Vadillo Machota S, Píriz Duran S, Mateos Yanes EM,2002 Manual de microbiología veterinaria, Madrid, España, McGRAW-HILL.

31-Yousef, AE; Carlstrom, C.2003. Microbiología de los alimentos: Manual de laboratorio. Zaragoza, España. ACRIBIA.

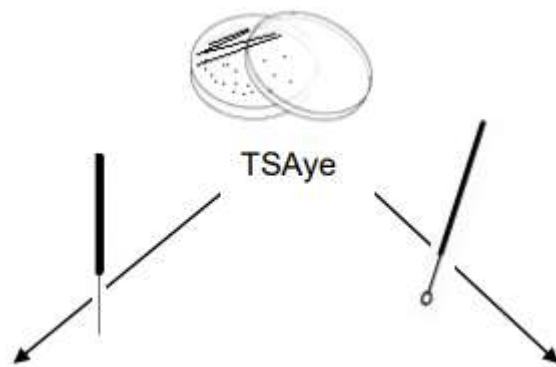
ANEXOS

Anexo. 1



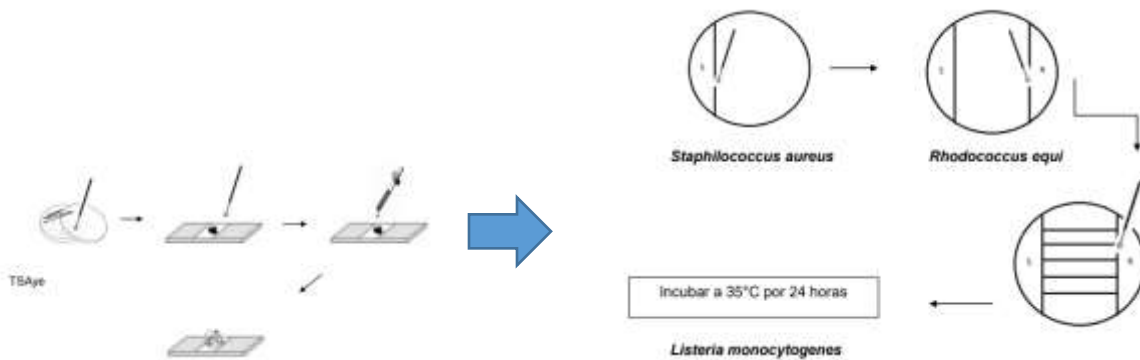
Enriquecimiento y Aislamiento de *Listeria monocytogenes* en carne de cerdo y bovino.

Anexo. 2



Catalasa

CAMP

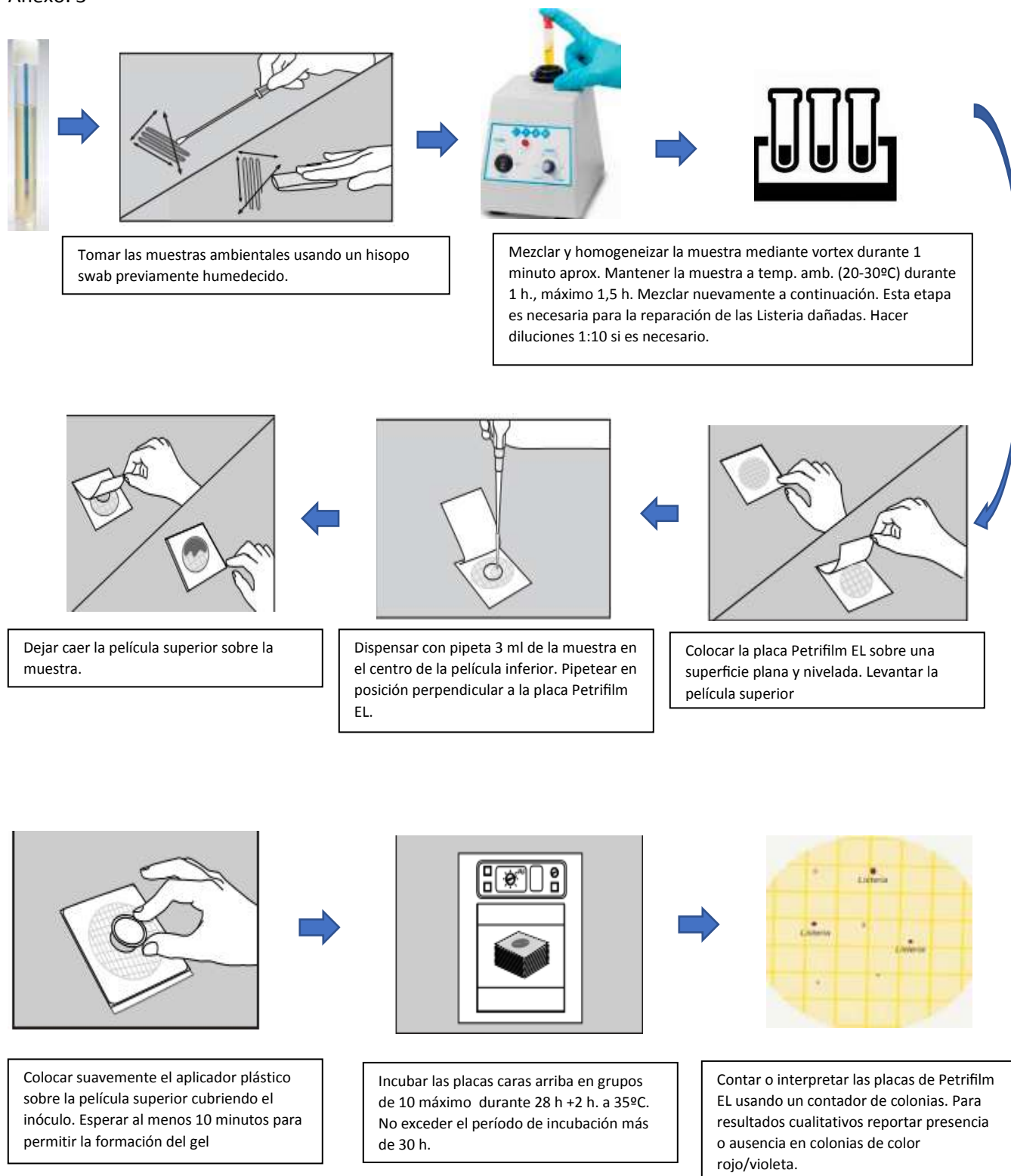


MICROGEN LISTERIA ID



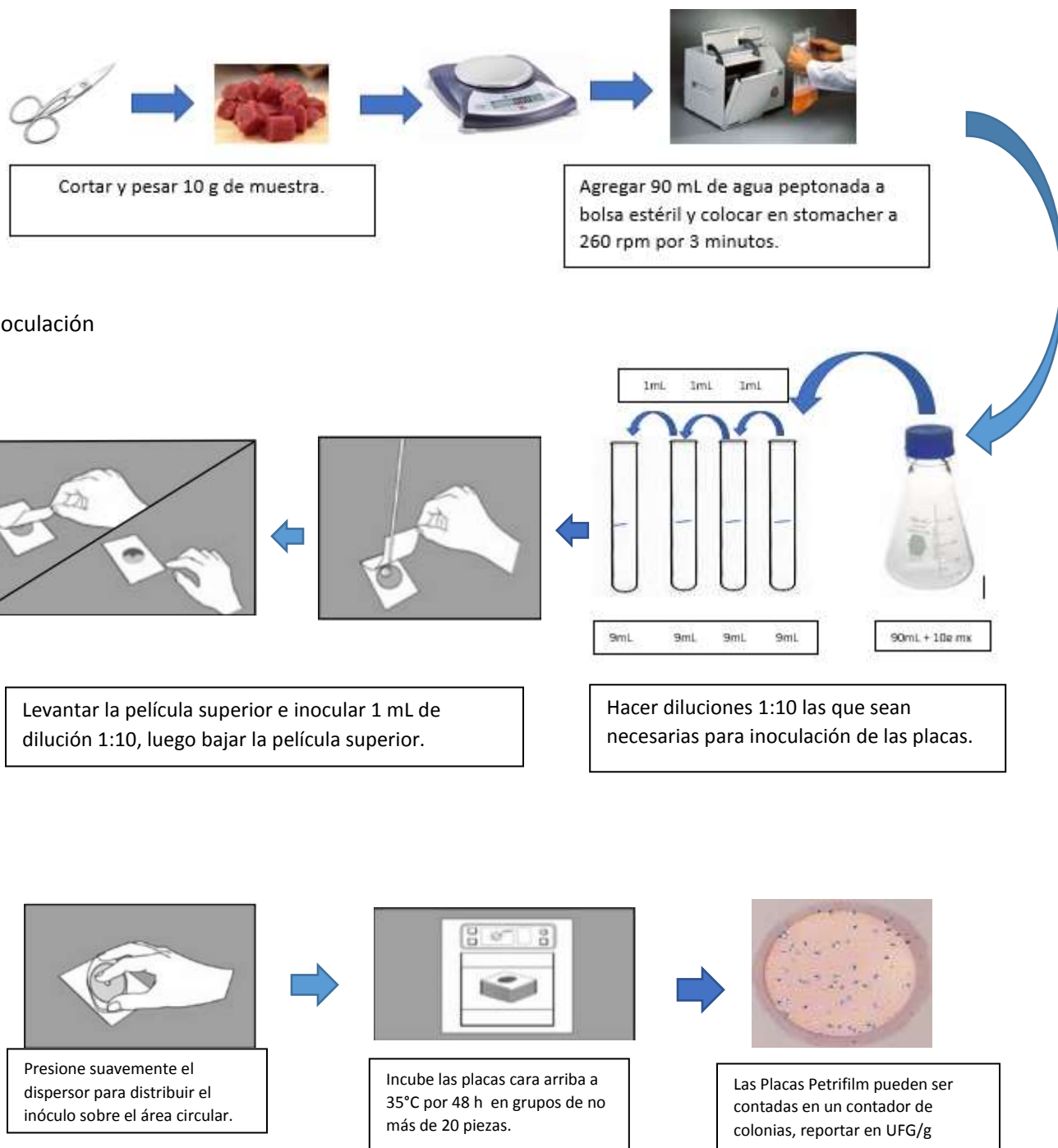
Pruebas Bioquímicas para el diagnóstico de *Listeria monocytogenes* en carne de cerdo y bovino.

Anexo. 3



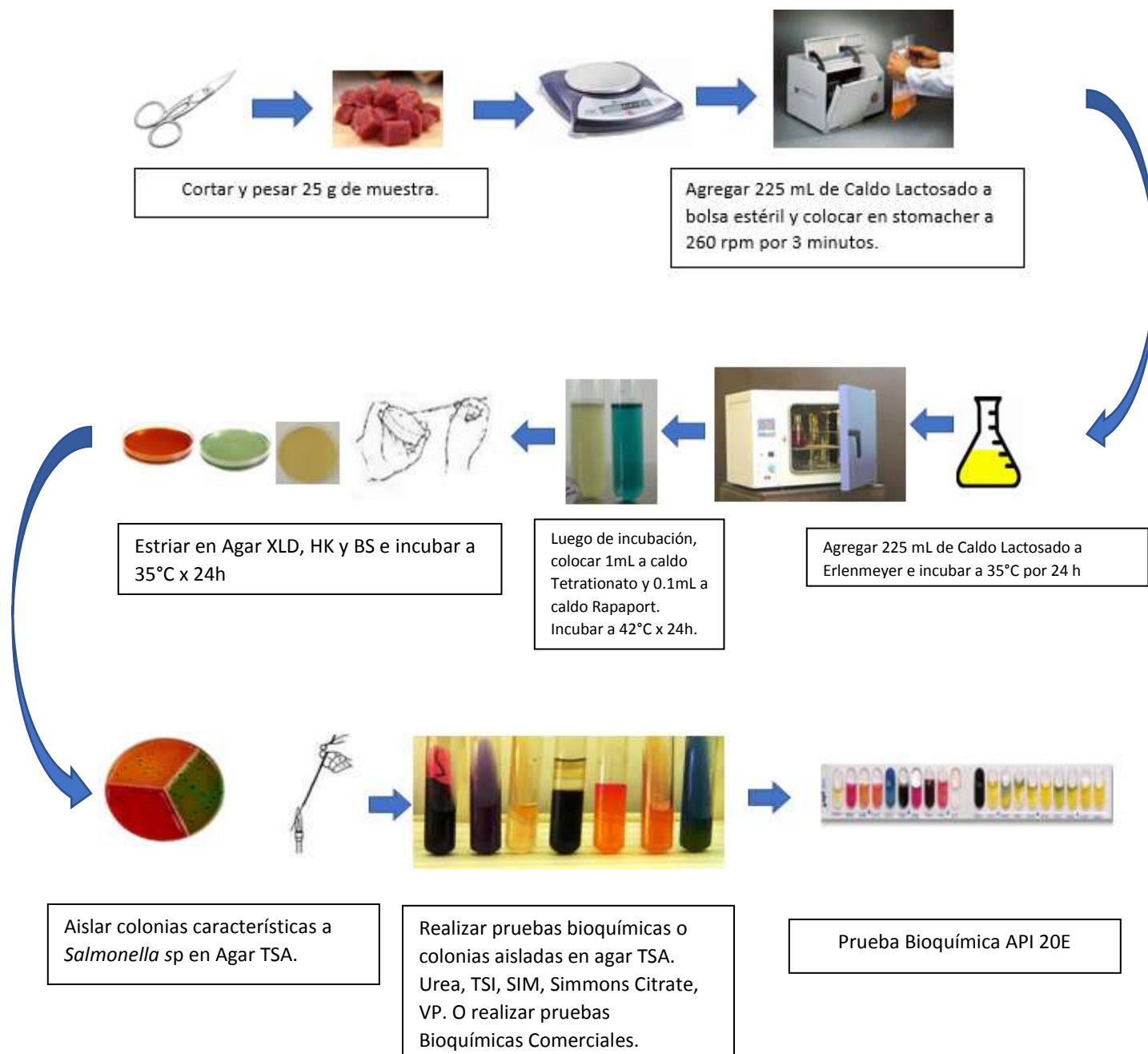
Preparación de muestra para aislamiento de *L. monocytogenes* en utensilios de uso en rastro.

Anexo. 4



Preparación de muestra y aislamiento de *Escherichia coli* en carne de cerdo y bovino.

Anexo 5.



Preparación de muestra y aislamiento de *Salmonella sp.* en carne de cerdo y bovino.

Anexo. 6

MEDIO SELECTIVO	Color antes de la inoculación	Características coloniales de <i>Salmonella sp.</i>
Agar Verde Brillante (VB)	Oscuro, color marrón	Rosas o rojas pueden ser transparentes, rodeadas de medio enrojecido. Las bacterias fermentadoras de lactosa son amarillas.
Agar Sulfito Bismuto (SB)	Opaco, verde pálido	Café, grises o negras; con o sin brillo metálico. Algunas veces presencia de halo café o negro.
Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)	Claro, color rojo brillante	Rosas o rojas pueden ser transparentes, con o sin centro negro. En algunos casos completamente negras.
Agar para <i>Salmonella</i> y <i>Shigella</i> (SS)	Claro, color rosa	Translucidas en ocasiones opacas. Algunas con centro negro Las colonias fermentadoras de lactosa son rojas.
Agar entérico Hektoen	Oscuro, color verde	Verde o azul verdes con o sin centro negro. En algunos casos completamente negras.

Colonias típicas de *Salmonella sp.* en medios sólidos selectivos. ⁽³⁾

Anexo.7

Medio	Resultado a	Color antes de Inocular/Incubar	Color despues de Inocular/Incubar
Agar LIA:H2S	+	Purpura tenue	Ennegrecimiento Crecimiento
Agar LIA: Fermentacion Glucosa	+	Purpura tenue	Fondo tubo amarillo Crecimiento
Caldo: Ureasa	-	Rosa mexicano	Rosa-Violeta Crecimiento
Caldo: Fermentacion sacarosa	-	Rosa mexicano	Amarillo Crecimiento
Medio SIM: Movilidad	d	Amarillo tenue. Semisolido, translucido	Crecimiento en sunperficie y picadura, turbiedad/difusion fuera de picadura
Medio SIM: Movilidad	d	Amarillo tenue. Semisolido, translucido	Crecimiento en sunperficie y picadura, turbiedad/difusion fuera de picadura
Medio SIM: Indol	-	Amarillo tenue. Semisolido, translucido	Con reactivo Kovacs: Formacion de anillo rojo en superficie
Medio SIM: H2S	+	Amarillo tenue. Semisolido, translucido	Ennegrecimiento, Crecimiento
Caldo RMVP: Prueba de rojo de Metilo	+	Amarillo tenue. translucido	Con indicador rojo de metilo: Rojo
Caldo RMVP: Prueba Voges-Proskauer	-	Amarillo tenue. translucido	Con reactivos VP1 y VP2: Anillo rojizo
Agar Sitrato Simmons	V a +	Verde	Azul cercimiento
Caldo Malonato	c	Verde	Azul
Caldo Manitol rojo fenol	+	Rojo	Amarillo
Obsrvacion Microscopica	Bacilos Cortos Gramnegativos, no esporulado a		

* +.90% o mas positivos en 1 o 2 dias; - 90% o mas negativos en 1 o 2 dias; v. Variable.

b la mayoría de los cultivos de *S. arizonae* son negativos.

c la mayoría de los cultivos de *S. arizonae* son positivos.

d Exepto *S. enterica aerovar Pullorum* y *S. enterica aerovar Gallinarum* y cepas con flagelos disfuncionales.

Reacciones bioquímicas de *Salmonella sp.* (3).

Anexo. 8

8.0 Grupo de alimento: Carnes y Productos Cárnicos. Esta categoría incluye todos los tipos de productos cárnicos, de aves de corral y caza, en piezas y cortados o picados, frescos y procesados, carnes congeladas, incluyendo empanizados y rebosados y carnes enlatadas.			
8.1 Subgrupo del alimento: Productos cárnicos, crudos (empacados). No incluidas materias primas.			
8.1.1 Subgrupo del alimento: Productos cárnicos crudos diferentes al pollo.			
Parámetro	Categoría	Tipo de riesgo	Límite máximo permitido
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 (carne molida, picada y tortas para hamburguesa)	10	A	Ausencia
<i>Salmonella spp/ 25g</i>	10		Ausencia
<i>Escherichia coli</i>	5		10 UFC/g

Límites Permitidos Reglamento Técnico Centro Americano 67.04.50:08

DETERMINACIÓN DE LA CONTAMINACIÓN DE *LISTERIA MONOCYTOGENES*, *ESCHERICHIA COLI* Y *SALMONELLA SP.* EN CARNE DE CERDO Y BOVINO EN LA SALA DE MATANZA DE SANTA ANA.

Rosy Francis Alvarenga Artiga¹; Karen Patricia Rodríguez de Alvarez²

⁽¹⁾ Master en Microbiología e Inocuidad de Alimentos. rosyfrancis@hotmail.com

⁽²⁾ Master en Microbiología e Inocuidad de Alimentos. Karen_rodriguezg@hotmail.com

Abril, 2018

RESUMEN

La investigación se realizó en el Departamento de Santa Ana, en el período de agosto 2015 a enero 2016; meses durante los cuales se recolectaron 20 muestras de carne bovinos y 20 de cerdos para la determinación de la contaminación *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*.

Se realizaron tres visitas en la sala de matanza en las que se verificó el proceso de sacrificio y faenado de las especies en estudio. Se verificó el grado de cumplimiento de las buenas Prácticas de Manufactura e Higiéncia sanitarias al momento del sacrificio. Se realizó una entrevista con el gerente de la Sala de Matanza, en la cual se le solicitaron todos los registros, de igual manera al personal que labora en el rastro para verificar las Buenas Prácticas dentro de los procesos en la Sala de Matanza, con toda la información recolectada anteriormente se elaboró guía de Buenas Prácticas de Faenado.

Se realizaron dos muestreos, la carne de cerdo se tomó en horas tempranas de la mañana ya que eran los primeros animales en ser sacrificados. El segundo muestreo se hizo posteriormente en el mismo día cuando se iniciaba el sacrificio de los bovinos, posteriormente se llevaron las muestras al Laboratorio de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) para su procesamiento se siguieron metodologías establecidas por el Manual Analítico Bacteriológico (BAM) y la Asociación Oficial de Químicos Agrícolas (AOAC) y se compararon los resultados con el Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08 Alimentos, Grupo N° 8 Carnes y Productos Cárnicos.

Se investigó *Listeria monocytogenes* en utensilios utilizados en el proceso de sacrificio de los animales los cuales fueron cuchillos, ganchos, tabla de corte de piezas, pared y mesa multi uso, obteniendo resultados negativos en cada uno de ellos.

Posteriormente se procesó la información obtenida, haciendo uso de estadística descriptiva y a partir del procesamiento de esta información se obtuvo los resultados definitivos de la investigación.

Se afirma que hay contaminación en la carne de cerdo y bovino de las tres bacterias determinadas, teniendo el mayor porcentaje de contaminación para *L. monocytogenes* y *Salmonella sp* en carne de bovino y *Escherichia coli* en carne de cerdo, ambas carnes indican la presencia de *Escherichia coli* a altos niveles de UFC/g.

Palabras Claves: Sala de Matanza, Buenas Prácticas de Faenado, *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Listeria monocytogenes*.

INTRODUCCION

La inocuidad de los alimentos es la garantía de que no causará daño al consumidor, cuando sea preparado o ingerido y de acuerdo con el uso a que se destine. Los alimentos son la fuente principal de exposición a agentes patógenos, tanto químicos como biológicos (virus, parásitos y bacterias), a los cuales nadie es inmune, ni en países en desarrollo ni desarrollados. Cuando los alimentos se contaminan en niveles inadmisibles de agentes patógenos y contaminantes químicos, o con otras características peligrosas, conllevan riesgos sustanciales para la salud de los consumidores, y representan grandes cargas económicas para las diversas comunidades y naciones.

En esta investigación se determinó la contaminación por *L. monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp* en carne de Cerdo y Bovino en la Sala de matanza de Santa Ana. Muchos brotes en diferentes países han estado relacionados con estas bacterias que contaminan la carne.

Por lo que es importante implementar Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias al momento del sacrificio de cualquier especie animal, para evitar las enfermedades transmitidas por alimentos ETAS.

MATERIALES Y METODOS

La investigación se realizó en la sala de matanza del departamento de Santa Ana, el procesamiento de las muestras se llevó a cabo en El Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) en la Universidad de El Salvador.

Se realizaron tres visitas a la sala de matanza en las que se verificó el proceso de Sacrificio y Faenado de las especies en estudio.

Se verificó el grado de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias al momento del sacrificio.

Se realizó una entrevista con el gerente de la sala de matanza, en la cual se le solicitaron todos los registros, de igual manera al personal que labora en el rastro para verificar las Buenas Prácticas dentro de los procesos en la sala de matanza.

Después de observar el proceso de sacrificio, verificar los registros utilizados en el rastro y entrevistar al personal que labora en él, se destacaron algunos puntos en el proceso de sacrificio que deben ser mejorados, por esta razón se elaboró una Guía de Buenas Prácticas de Faena e Higiénico Sanitarias

Se tomaron 20 muestras de carne de bovinos e igual número de carne de cerdos que fueron sacrificados en la sala de matanza, recolectando con medidas asépticas y bolsas de plástico estéril 100 gr de los músculos trapecio y latissimus dorsi de la región dorsal de la espalda de bovinos conocido comercialmente como lomito, y trapecio región dorsal de la nuca conocido comercialmente como lomo en cerdos.

Análisis Microbiológico. Se realizó análisis microbiológico a las muestras de carne de Cerdo y Bovino, para determinar su inocuidad, de acuerdo a los criterios establecidos en el Grupo 8. Carnes y Productos Cárnicos del Reglamento Técnico Centro Americano RTCA 67.04.50:08. Se evaluó *Listeria monocytogenes*, (BAM,2011),

Escherichia coli, (AOAC 991.14) *Salmonella sp*, (BAM, 2011) y *Listeria monocytogenes* en los utensilios utilizados en el proceso de sacrificio de los animales (placas Petrifilm EL).

***Listeria monocytogenes*.** Se pesaron 25.0g de cada una de las muestras y fueron llevadas por los diferentes procesos de Pre-enriquecimiento, Enriquecimiento, aislamiento e Identificación según Metodología BAM, 2011.

***Escherichia coli*.** Se pesaron 10.0g de cada una de las muestras, inoculado 1.0ml de las dilución 1:10 realizadas a placas Petrifilm^{3M} para Coliformes/*E. coli*, Siendo los coliformes y *E. coli* productores de ácido y gas de la fermentación metabólica de la lactosa; las colonias de coliformes van generando ácido por lo que el indicador de PH (FTC Cloruro de triferil tetrazolium) va oscureciendo el color del gel, el gas queda atrapado alrededor de la colonia confirmando la presencia de un coliforme y las colonias de *E. Coli* se colorea de azul con formación de gas. (AOAC 991.14)

***Salmonella sp*.** Se pesaron 25.0g de cada una de las muestras y se inició con el Pre-enriquecimiento, es el paso en donde la muestra es enriquecida en un medio nutritivo no selectivo, que permite restaurar las células de *Salmonella* dañadas, logrando de esta manera una condición fisiológica estable, luego Enriquecimiento selectivo, se logra a partir de un medio de cultivo que conjunte dos condiciones, por un lado, debe incrementar las poblaciones de *Salmonella* y por otro inhibir otros microorganismos presentes en la muestra. Selección en medios sólidos, este punto se deriva directamente del anterior y se utilizan medios selectivos, que restringen el crecimiento de otros géneros diferentes a *Salmonella* y que permitan el reconocimiento visual característico de colonias sospechosas.

Identificación bioquímica, este paso permite la identificación genérica de los cultivos de *Salmonella* y la eliminación de cultivos sospechosos falsos. (BAM,2011).

Identificación de *L. monocytogenes* en los utensilios utilizados en el proceso de sacrificio de los animales así como también mesa multi usos y pared.

Se realizaron hisopados en cuchillos, ganchos, tabla de corte de piezas, pared y mesa multi usos en tubos con caldo Lethen para inactivar los desinfectantes utilizados en el rastro, de ahí se inocularon 3.0ml de cada tubo en placas ambientales de *Listeria monocytogenes* (EL) estas consisten en un medio de cultivo listo para usar que contiene agentes selectivos, nutrientes, un agente gelificante soluble en agua fría y un indicador cromogénico que facilita la detección de colonias de *Listeria*. Las placas Petrifilm (EL) han sido diseñadas para análisis ambiental y constituyen una ayuda para el control de la eficiencia de las operaciones de limpieza y desinfección en las plantas.

Con toda la información recolectada anteriormente se elaboró guía de Buenas Prácticas de Faenado.

RESULTADOS Y DISCUSION

De las muestras analizadas se determinó la contaminación de tres bacterias de importancia en inocuidad de alimentos, obteniendo los resultados siguientes: carne de bovino 7 muestras positivas a *L.monocytogenes*, 14 positivas a *Salmonella sp* y todas positivas a *Escherichia coli*, en cerdos la muestra positiva para *L.monocytogenes* fue una, y 13 muestras para *Salmonella sp* y todas positivas para *Escherichia coli*.

***L.monocytogenes* en carne de cerdo.** En la figura N°1 se expresa la presencia o ausencia de *L.monocytogenes* en carne de cerdo, apreciando que del total de veinte muestras, diecinueve tienen ausencia de la bacteria que representa un 95% de muestras negativas, mientras que hay presencia en una muestra y esta representa el 5% del total de muestras analizadas.

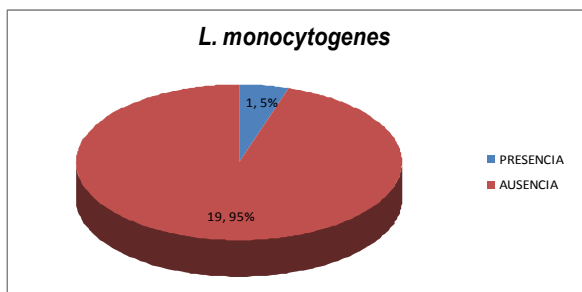
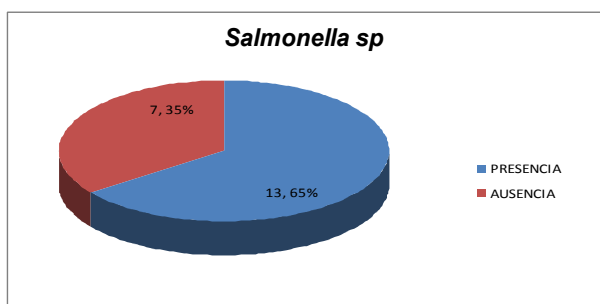


Figura N° 1 Resultados de la presencia y ausencia de *L.monocytogenes* en carne de cerdo.

***Salmonella sp* en carne de cerdo.** En la figura N°2 se expresa la presencia y ausencia de *Salmonella sp* en carne de cerdo, apreciando que, del total de veinte muestras, siete tienen ausencia de la bacteria que representan un 35% muestras negativas, mientras que hay presencia en trece muestras que representa el 65% del total muestras analizadas.

Figura N° 2 Resultados de la presencia y ausencia de *Salmonella sp* en carne de cerdo.



***Escherichia coli* en carne de cerdo.** En la figura N°3 se expresa la cantidad de UFC/g en veinte muestras de carne de cerdo, representando todas las muestras son positivas a *Escherichia coli*, siendo la muestra número nueve con la mayor cantidad de UFC/g y la muestra número diecisiete la de menor cantidad de UFC/g.

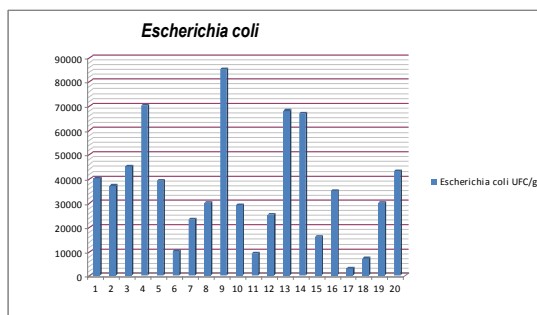


Figura N° 3 Resultados de unidades formadoras de colonia por gramo de *E.coli* en de cerdo.

***L.monocytogenes* en carne de bovino.** En la figura N°4 se mostró la presencia o ausencia de *L.monocytogenes* en carne de bovino, apreciando que, del total de veinte muestras, siete tienen presencia de la bacteria que representa un 35% muestras positivas, mientras que hay ausencia en trece muestras que representa el 65% del total de muestras analizadas.

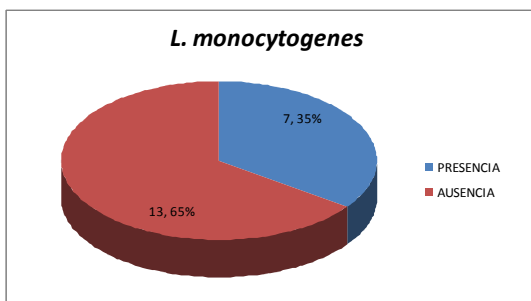


Figura N° 4 Resultados de la presencia y ausencia de *L.monocytogenes* en carne de bovino.

***Salmonella sp* en carne de bovino.** En la figura N°5 se expresa la presencia y ausencia de *Salmonella sp* en carne de bovino, apreciando que, del total de veinte muestras, catorce tienen presencia de la bacteria que representan un 70% muestras positivas, mientras que hay ausencia de seis muestras que representa el 30% del total de muestras analizadas.

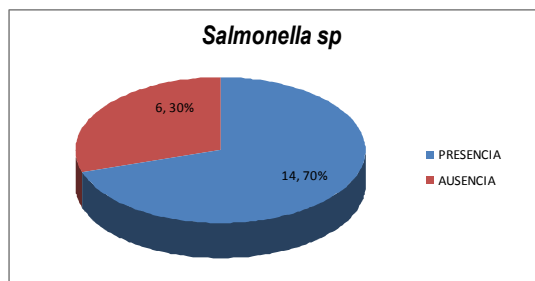


Figura N° 5 Resultados de la presencia y ausencia de *Salmonella sp* en carne de bovino.

Escherichia coli en carne de Bovino. En la figura N°6 se expresa la cantidad de UFC/g en muestras de carne de bovino, representando que todas las muestras son positivas a *Escherichia coli*, siendo la muestra número trece la que presenta mayor cantidad de UFC/g y la muestra número diez la de menor cantidad de UFC/g.

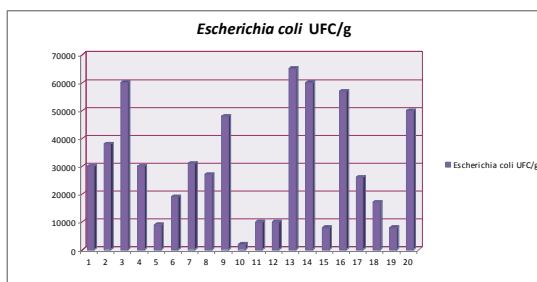


Figura N° 6 Resultados de la presencia y ausencia de *Escherichia coli* sp en carne de bovino.

L. monocytogenes es utensilios y pared utilizados en el Rastro. El cuadro N° 1 expresa la importancia en los rastros de medir la contaminación *L.monocytogenes* en las superficies, utensilios y ambiente en la cual se hace el sacrificio de los animales de abasto ya que este microorganismo puede formar biopelículas que pueden perdurar y adherirse por muchos años en estos utensilios. Así pues, los resultados de esta investigación en los diferentes puntos de muestreo pared, ganchos, cuchillos, mesa multi usos y tabla de corte de piezas, que se tomaron en el rastro municipal de Santa Ana fueron negativos a *L. monocytogenes* en ambiente, por lo que esta no genero la contaminación que los animales faenados presentaron.

Puntos de recolección	Inicio de la faena	Final de la faena
Cuchillos	Ausencia	Ausencia
Ganchos	Ausencia	Ausencia
Tabla de corte de pieza	Ausencia	Ausencia
Pared	Ausencia	Ausencia
Mesa multi usos	Ausencia	Ausencia

Cuadro N° 1 Resultados de *L. monocytogenes* es utensilios y pared utilizados en el Rastro.

CONCLUSIONES

-La información expuesta en este estudio sienta un precedente sobre la contaminación de las bacterias *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*. en la carne de bovino y cerdo en el rastro de Santa Ana ya que se demostró que existe contaminación.

-Al analizar 20 muestras de carne de bovino y la misma cantidad en cerdos, esto reflejo que la carne de bovino presento una mayor contaminación a *L.monocytogenes*, *Salmonella sp* presenta una mayor contaminación en carne de bovino y en la carne de cerdo tiene mayor **contaminación con *Escherichia coli***.

-En los resultados obtenidos en la investigación se demostró que, de las tres bacterias analizadas, *Escherichia coli* presento mayor contaminación en ambas carnes.

-La sala de matanza de Santa Ana no cuenta con buenas prácticas de Faena e higiénico sanitarias al momento del sacrificio por lo que esto contribuye a la contaminación de la carne de cerdo y bovino.

-La bacteria *Listeria monocytogenes* no se aisló de utensilios como cuchillos, ganchos, tabla de corte de piezas, así como tampoco de mesa multi uso y pared, muestreados dentro de la sala de matanza de Santa Ana.

-La prevención y el control efectivo de la contaminación en los mataderos exige la aplicación de buenas prácticas de higiene, de prácticas de gestión basadas en el Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Sala de Matanza de Santa Ana, a CENSALUD, Laboratorios Forrajes S.A de C.V y 3M® el Salvador por su apreciable aporte en el Desarrollo de esta Investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- Baños Sanabria A, Miranda Hernandez V, Ramos Hernandez L. 2005 Análisis y propuesta de mejoras para los procesos administrativos del rastro municipal de santa tecla 2005, (consultada el 30 de mayo de 2014). recupera en:<http://www.webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/.../TESIS/01/.../ADBA0000857>
- 2- Bacteriological Analytical Manual, 2011. (consultada 10 de enero de 2014). recuperada:<http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm2006949.htm>
- 3- Bacteriological Analytical Manual 2016. Metodos analíticos. (consultada 10 de febrero de 2016) recuperada <http://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorimethods/ucm2006949.htm>
- 4- Barahona. J. C. 2011 (consultado 27 de junio de 2017). Recuperado en <http://www.la.prensa.grafica.com/el.slavador/departamentos/220076-alcaldia-busca-concesiones.rastros>
- 5- Consejo de ministros de integración económica centroamericana. 2009 Reglamento Técnico Centroamericano: alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos. Ministerio de salud, San Salvador, El Salvador. (se)
- 6- Canet. J.J 2016. *Escherichia coli* características, patogenicidad y prevención. (consultado 15 de junio de 2017) recuperado en www.betelgeux.es/blog/2016/01/19escherichia.coli.caracteristicas.patogenicidad.y.prevencion.//
- 7- Eley, AR. 1994. Intoxicaciones alimentarias de etiología microbiana, Zaragoza, España. ACRIBIA
- 8- Favila, L.C. 2003. Principales contaminantes de la carne del Rastro a su consumo. (consultado 10 de marzo de 2017) recuperado en <http://www.comitepecuario.com/Ponencias/Principales%20Contaminantea%20Del%20Rastro%20A%20Su%20Consumo.pdf>.

- 9- Fundación vasca para la Seguridad Agroalimentaria.2006. Listeria monocytogenes (consultado 10 de marzo de 2017) recuperado en <http://www.elika.eus/datos/pdfsagrupados/documentos85/copia%20%204.listeria.pdf>
- 10- Godinez, G.2007.Microbiología en Cuatro Rastros Municipales de Estado de Hidalgo (sd).(consultado 12 de marzo de 2017). recuperado en <https://www.google.com/sv/webhp?sourceid=chromeinstant#ion=1espv=2#=UTF>
- 11- Heredia, N, (ed).2014.Productos Cárnicos Principales Patogenos y Estrategias no termincas de control (consultado 13 de marzo de 2017) recuperado en <http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/v88s1/nacamehv8s12042heredia-et al.pdf>
- 12- Hernandez A.S. 2013.incidencia de Escherichia coli O157 y Salmonella sp en carne de bovino comercializada en Texcoco (consultado el 13 de marzo de 2017) recuperado en https://chapingo.mx/produccionanimal/administrador/components/com_jresearch/files/theses/PPA_MC0461113RGP-SHA.pdf
- 13- Hooper,D. W;Greenwood,M.Microbiologia practica de los alimentos.1995.Zaragoza,España.ACRIBIA
- 14- International Commission on Microbiological Specifications for foods. 2000.Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España. ACRIBIA
- 15- Jay, JM; Loessner, MJ; Golden, DA.2005 Microbiología moderna de los alimentos. Zaragoza, España. ACRIBIA. 2005
- 16- Lizano M, Perez R, sanidad e inocuidad pecuaria en Centro América y Republica Dominicana, 2012. (consultada 9 de enero de 2014) recuperada http://www.ruta.org/docs_Estudio_Sanidad_Inocuidad_/Informe%20Nacional%20EI20Salvador.pdf
- 17- Marutin L, Bacteriological analytical manual.2001. (consultada 15 de diciembre de 2013) recuperada <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm072661.htm>
- 18- Melendez garcia R.A. 2012.Principales riesgos microbilogicos de los productos cárnicos crudos-curados emvasados en atmosferas modificadas y/o vacio de interés económicos en “Catilla y Leon”. Universidad de León tesis doctoral
- 19- Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales Plan Nacional para Construcción y Mejoramiento de rastros Municipales 2010 (contada el 30 de mayo de 2014).se recupera en http://www.marn.gob.sv/phocadownload/presentacion_plan_nacional_rastros.pdf
- 20- Ministerio del Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2014.Lineamientos para el diseño de rastros y mataderos (consultada 27 de junio de 2017) recuperado en <http://www.marn.gob.sv/wp-mataderos.pdf>
- 21- Mouwen J.Prieto M.1998.Aplicacion del sistema Aricpc-HACCP a la Industria cárnica.España.Published.
- 22- Navarro R. B. 2016.Escherichia coli características, patogenicidad prevención.(consultado 15 de junio de 2017) recuperado en www.betelgeux.es/blog/2017/02/14/539.//

- 23- Official Methods AOAC 991.14,2005 Coliform and Escherichia coli Counts in Food:MÉTODO PETRIFILM.(consultada el 10 de enero de 2014). Recuperada en <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=46949>
- 24- Organización Mundial de la Salud,2015. (consultada 12 de enero de 2014). recuperada en [hptt://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/esl](http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs399/esl).
- 25- Reglamento técnico centroamericano (2009), (consultado 16 de junio de 2017) recuperado www.ccit.hn/wpcontent/uploads/2014/08/anexos.resolucion-N-283-2012-aditivos.alimentarios.pdf
- 26- Roberts, D; Hooper, W; Greenwood, M. 1995 Microbiología práctica de los alimentos. Zaragoza, España.ACRIBIA
- 27- Sanchez del Olmo A. 2012. Evaluación del efecto antimicrobiano de la lactoferrina bovina y sus derivados y su combinación con altas presiones, sobre patógenos y alterantes de la carne y productos cárnicos. Universidad Complutense de Madrid. España.
- 28- SENASICA. (nd), Manual de Buenas Prácticas de Manufactura y Procedimientos Operacionales de Sanitización Estandar, dirigida a la industria de emparadoras NOTIF de carnes frias y embutidos. (consultada 10 de junio de 2017) se recupera en: www.sagarpa.gob.mx
- 29- STANCHI NO,2007, Microbiología veterinaria, Buenos aires, Argentina, INTERMEDIA
- 30- Vadillo Machota S, Píriz Duran S, Mateos Yanes EM,2002 Manual de microbiología veterinaria, Madrid, España, McGRAW-HILL.
- 31- Yousef, AE; Carlstrom, C.2003. Microbiología de los alimentos