

Detección de microorganismos patógenos (*Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes*) en carnes procesadas provenientes de supermercados de Guadalajara, Jalisco México.

Ramírez Suárez M.F. ¹, Lugo Melchor O.Y. ¹, Rentería Ledesma M.A. ¹

¹ Centro de investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.
Av de los Normalistas 800, Guadalajara, 44270, Jalisco, México. Correo: framirez@ciatej.mx
Palabras clave: Contaminación, PCR tiempo real, PCR punto final, confirmación

Introducción

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) causan alrededor de 600 millones de casos y 420 000 muertes al año, y una pérdida consiguiente de 33 millones de años de vida ajustados en función de la discapacidad [1]. *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes* son uno de los principales microorganismos responsables de más de la mitad de las enfermedades transmitidas por alimentos; pueden causar desde náuseas, vómito, dolor estomacal, diarrea hasta poner en riesgo la vida de la persona enferma [2].

Los alimentos de origen animal son la principal fuente de contagio debido a su alto contenido nutrimental siendo más susceptibles las carnes procesadas al estar expuestas a diferentes etapas durante su procesamiento [2]. Los embutidos (un tipo de carne procesada) se ha caracterizado por su alto contenido de sodio, nitritos y nitrosos así como diversos tratamientos biotecnológicos como el ahumado. Diversos estudios han relacionado estos compuestos con afectaciones a la salud como aumento a la incidencia de hipertensión, enfermedades crónicas no transmisibles, las cuales causan anualmente 9.4 millones de muertes en el mundo y representan el 12.8% de muertes de todas las causas [3], agentes con actividad carcinogénica, mutagénica y teratogénica [4,5]. Por lo que el constante interés de los profesionales de la salud y la población de disponer productos industrializados más saludables con bajas concentraciones de conservadores, aditivos naturales o artificiales y apegados a las recomendaciones de la OMS ha hecho que la industria alimentaria busque alternativas para el procesamiento de sus alimentos haciéndolos más susceptibles a contaminarse [6].

Es por esto que el presente estudio tiene como objetivo determinar la presencia o ausencia de *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes* en carnes procesadas (salchichas, jamón y carnes congeladas) que se encontraban disponibles en dos supermercados de Guadalajara, Jalisco en noviembre 2019.

Metodología

Un total de 55 muestras de salchichas, jamón y carne congelada (33, 17 y 5 respectivamente) se adquirieron de dos supermercados de la Ciudad de Guadalajara, Jalisco en Noviembre del 2019. Después de la compra, las muestras se transportaron en hieleras al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ) para el análisis microbiológico y molecular, las muestras se mantuvieron a 4° C hasta su procesamiento (no más de 48 horas después de la adquisición de las muestras).

Las muestras se identificaron asignándoles un código individual dependiendo el supermercado, la zona donde se encuentre este y el día que se adquirieron así como la materia prima por la que estaban elaboradas (pavo, pollo, cerdo, etc). En campana de flujo laminar y después de haber esterilizado con etanol al 70% los paquetes, se tomo 25 g de las muestras y se colocaron en frasco con 225 ml de agua peptonada o caldo UVM (*Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes* respectivamente).

Análisis de *Salmonella spp*:

Las muestras se incubaron durante 24 horas a 37° C y se realizó PCR tiempo real (iQ – Check de BIO RAD *Salmonella spp* II kit). Las muestras positivas (Ct < o igual a 25 y no > a 30 y con curva similar al control positivo) se sembraron en caldos selectivos (Rappaport y Mkt-n) y posteriormente en agares selectivos (XLD y HEK), las placas con colonias presuntamente positivas se confirmaron por PCR punto final, el gen de virulencia que se amplificó fue invA de 244 pb.

Análisis de *Listeria monocytogenes*:

Las muestras se incubaron durante 24 horas a 37° C y se realizó PCR tiempo real (iQ – Check de BIO RAD *Listeria monocytogenes II* kit). Las muestras positivas (Ct < o igual a 25 y no > a 30 y con curva similar al control positivo) se sembraron en caldo Fraser y posteriormente en agar selectivo (OXFORD), las placas con colonias presuntamente positivas se confirmaron por PCR punto final, el gen de virulencia que se amplificó fue hyl de 234 pb.

Análisis estadístico:

Se realizó un estudio descriptivo transversal para determinar la presencia de *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes* en carnes procesadas. Para el análisis de los resultados se utilizó el programa de Microsoft Office Excel 2003.

Resultados y discusión:

El objetivo del presente estudio fue determinar la presencia o ausencia de *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes* en carnes procesadas (**tabla 1**). De las 55 muestras, 36 presentaban carne de ave, 7 carne de cerdo, 5 carne de res, 5 carne de pavo y cerdo y 1 carne de res y cerdo como materia prima.

Seis (48, 50, 51, 52, 53, 55) del total de las muestras (55) no tenían dentro de sus ingredientes nitritos y nitratos, debido a que eran carnes congeladas y estos no son comunes en su elaboración. Sin embargo, el contenido de sodio era elevado; la muestra 51, la cual su único ingrediente era la carne de res y la muestra 52, la cual sí contenía conservadores y potenciadores de sabor, presentaban una diferencia de 556 mg de sodio por 100 g de alimento. Dos muestras (5 y 6) presentaban procesos tecnológicos como el ahumado y el rostizado. 15 muestras exponían en su etiqueta frases como reducido en sodio, bajo en grasa, sin conservadores artificiales, sin gluten, etc.

Tabla 1.

Descripción de las muestras obtenidas en los dos supermercados de Guadalajara, Jalisco.

	Tipo de carne procesada	Materia prima principal	Miligramos de sodio por cada 100g de alimento
1	Salchicha tipo viena	Carne de ave, grasa de cerdo	808.06 mg
2	Salchicha	Cerdo	670 mg
3	Salchicha	Pavo	800 mg
4	Salchicha	Pavo	600 mg
5	Salchicha	Pavo	837 mg
6	Salchicha	Pollo rostizado	941.98 mg
7	Salchicha	Pavo	753.84 mg
8	Salchicha	Pavo	1,040 mg
9	Salchicha	Pavo	800 mg
10	Salchicha	Pavo	794.91 mg
11	Salchicha	Pavo	804.8 mg
12	Salchicha viena	Carne de cerdo	900 mg
13	Salchicha tipo Frankfort	Pavo	900 mg
14	Salchicha vienes	Pavo	1,212.80 mg
15	Salchicha hot dog	Cerdo	900 mg
16	Salchicha	Cerdo	900 mg
17	Salchicha	Pavo	828.57 mg
18	Salchicha	Pavo	829 mg
19	Salchicha	Pavo, pollo, cerdo	933.33 mg

20	Salchicha	Pavo	980 mg
21	Salchicha	Pavo	575.51 mg
22	Salchicha	Pavo	950 mg
23	Salchicha	Pavo	620 mg
24	Salchicha viena	Carne de ave	872.73 mg
25	Salchicha viena	Carne de ave	750 mg
26	Salchicha	Pavo	790.4 mg
27	Salchicha	Pavo	750.4 mg
28	Salchicha	Pavo	1,200 mg
29	Salchicha Frankfurt	Pavo	750.4 mg
30	Salchicha hot dog	Pavo	900 mg
31	Salchicha Frankfurt	Pavo	755.2 mg
32	Jamón	Pavo	596.15 mg
33	Jamón	Pavo y cerdo	1,100 mg
34	Jamón	Pavo	798.07 mg
35	Jamón	Pavo	
36	Jamón	Carne de cerdo	800.83 mg
37	Jamón	Pavo y cerdo	849.73 mg
38	Jamón	Pavo	530 mg
39	Jamón	Pavo y cerdo	942.85 mg
40	Jamón	Pavo	849.73 mg
41	Jamón	Pavo	1,102.56 mg
42	Jamón	Pavo	677.77 mg
43	Jamón	Cerdo	808 mg
44	Jamón	-	-
45	Jamón	Pavo	1,200 mg
46	Jamón	Cerdo	872 mg
47	Jamón	Pavo	796 mg
48	Carne moldeada	Res	558.66 mg
49	Jamón	Pavo y cerdo	798.07 mg
50	Carne de hamburguesa	Res y cerdo	374.78 mg
51	Milanesa de res	Res	60 mg
52	Arrachera marinada	Res	616 mg
53	Arrachera marinada	Carne de res	470 mg
54	Jamón	Pavo	1300 mg
55	Carne de hamburguesa	Carne de res	644 mg

Las muestras se analizaron por PCR tiempo real para detectar *Salmonella spp* y *Listeria monocytogenes*. Todas las muestras dieron negativo para *Salmonella spp*. En la **tabla 2** se identifican las muestras positivas para *Listeria monocytogenes*.

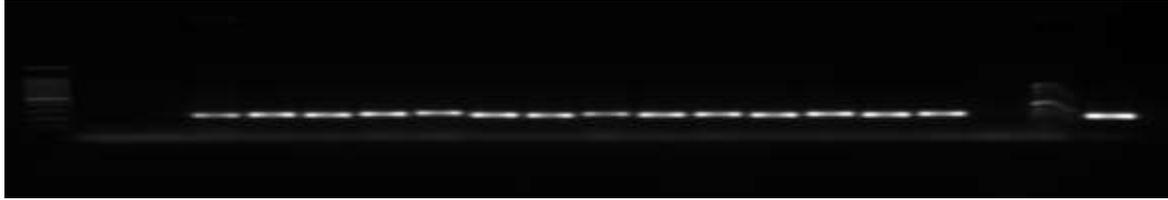
Tabla 2.
Muestras positivas en PCR tiempo real de *Listeria monocytogenes*.

Muestra	Resultado
22	Ct 20, curva similar al control positivo
28	Ct 22, curva similar al control positivo
33	Ct 24, curva similar al control positivo
51	Ct 20, curva similar al control positivo

Se realizó PCR punto final para confirmar *Listeria monocytogenes* en las muestras 22, 28, 33 y 51. Al pasar la muestra al agar OXFORD se realizó por duplicado y de cada placa se tomaron cuatro colonias presuntamente positivas y posteriormente al realizar PCR punto final cada una de las colonias se analizó por duplicado. Se incluyó blanco de lisis, blanco de medio, blanco de PCR y control positivo (*Listeria monocytogenes* ATCC) y negativo (*Listeria innocua* ATCC) (figura 1, 2, 3 y 4).

Figura 1.

Resultados PCR punto final de *Listeria monocytogenes*.

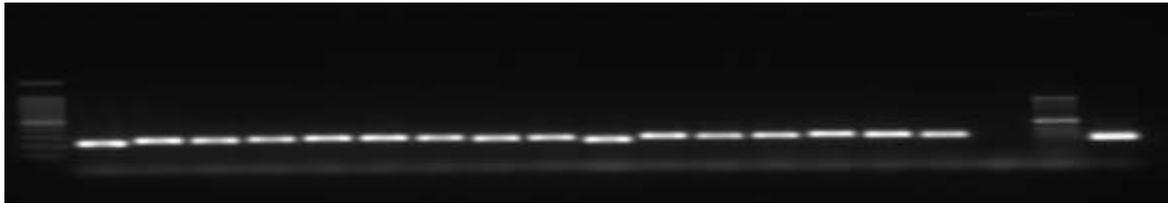


Orden de los carriles: 1) marcador de peso molecular (100 pb), 2) blanco de lisis, 3) blanco de medio, del carril 4 al 17 representan

el resultado de la muestra 22, 18) blanco de PCR, 19) control negativo y 20) control positivo.

Figura 2.

Resultados PCR punto final de *Listeria monocytogenes*

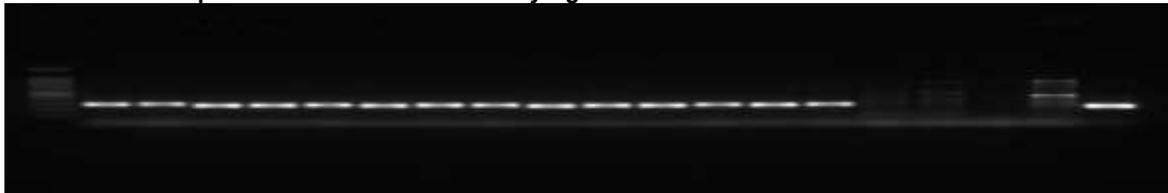


.Orden de los carriles: 1) marcador de peso molecular (100 pb), del carril 2 y 3 representa el resultado de la muestra 22, del

carril 4 al 17 representa el resultado de la muestra 28, 18) blanco de PCR, 19) control negativo, 20) control positivo

Figura 3.

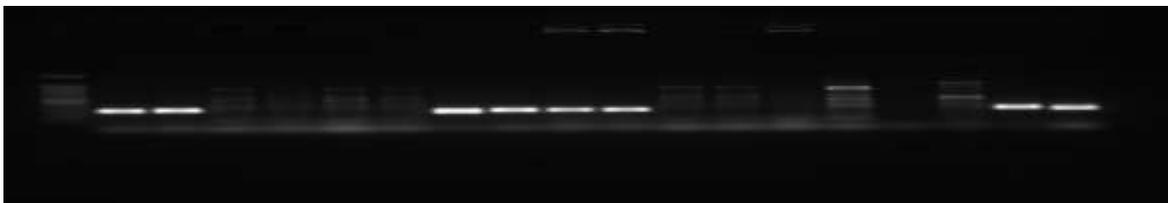
Resultados PCR punto final de *Listeria monocytogenes*.



Orden de los carriles: 1) marcador de peso molecular (100 pb), del carril 2 al 3 representa el resultado de la muestra 28, del carril 4 al 15 representa el resultado de la muestra 33, del carril 16 al 17 representa el resultado de la muestra 51, 18) blanco de PCR, 19) control negativo, 20) control positivo.

Figura 4.

Resultados PCR punto final de *Listeria monocytogenes*.



Orden de los carriles: 1) marcador de peso molecular (100 pb), del carril 2 al

14 representa el resultado de la muestra 51, 15) blanco de PCR, 16) control negativo, 17) control positivo, 18) control positivo.

Listeria monocytogenes fue el único patógeno que se aisló de las muestras (cuatro muestras positivas). En 1980 fue reconocido como patógeno por su presencia en personas que habían consumido col cultivada con abono fresco de oveja almacenada en frío durante seis meses, por lo que se ha relacionado el tiempo prolongado de conservación en refrigeración y un procesamiento deficiente en cuanto a medidas de calidad con la presencia de este microorganismo [7]. Se encuentra en la naturaleza y es responsable de brotes de listeriosis. Es tolerante a ambientes extremos, condiciones de estrés como un rango de pH de 4.1 a 9.6, altas concentraciones de NaCl (10 a 20% w/v) y a agentes antimicrobianos y su mortalidad es del 20 al 30% [8].

Tres de las cuatro muestras positivas presentaban como materia prima principal el pavo, aún no se ha relacionado a este como una de las principales fuentes de contagio, sino que su presencia es muy variada, desde vegetales, frutas, lácteos, productos lácteos, carne, pescado, pollo, etc. La cuarta muestra no contaba con ningún ingrediente extra al de carne de res por lo que la falta de higiene durante su recolección, la falta de conservadores naturales y artificiales demostraron su importancia en la inocuidad de los alimentos.

En un estudio elaborado por Trimoulinard en 2017, se analizaron más de 40 muestras de carnes procesadas cuya principal materia prima era la carne de ave, los resultados que obtuvieron fueron similares al de este estudio, nula presencia de *Salmonella spp.* En 2018, Andaria realizó un meta análisis de la presencia de cuatro microorganismos patógenos entre ellos *Salmonella spp.* en carne de aves y no se encontró en ninguna muestra, su baja incidencia se relaciona con la intervención de los miembros de la Unión Europea en el 2003 para la creación e integración de programas para reducir la presencia de este microorganismo.

Una de las limitantes del estudio fue que no se realizó comparaciones entre los diferentes productos disponibles en el mercado; sin nitritos y nitratos, sin o baja concentración de sodio, no orgánicos con los que sí presentaran estas características. El número de muestra de los diferentes productos (salchicha, jamón y carnes) no fue equiparable y además la compra de los productos en cada supermercado fue muy variable.

Conclusión:

La contaminación de las carnes procesadas puede darse desde la selección del animal que será sacrificado, el manejo que se le da a este, el paso de la carne por las distintas maquinarias para destrozarse, salar, compactar, etc, y en el transporte del producto para ser disponible al consumidor, es por esto que la industria alimentaria debe distinguir las posibles rutas de propagación para saber cómo proteger los alimentos del crecimiento bacteriano en las diferentes etapas de la cadena alimentaria. Las medidas que pueden detener el crecimiento de *Salmonella spp.* pueden ser insuficientes para *Listeria monocytogenes* por sus características de sobrevivencia antes mencionadas. Es importante conocer las características de proliferación de cada microorganismo de riesgo del producto a comercializar para saber cómo detener su propagación.

Listeria monocytogenes no es considerada un potencial patógeno para la salud pública por su baja incidencia, sin embargo, con el aumento de la población de adultos mayores y el cambio en los hábitos alimenticios como es la preferencia por alimentos listos para consumo, apuntan para que se convierta en un microorganismo de suma importancia en esta área.

La baja incidencia de *Salmonella spp.* en este y diversos estudios, se puede interpretar como una esperanza, ya que la alta incidencia de este microorganismo en años anteriores hizo que diversos organismos prestaran más atención al procesamiento de los alimentos así como a crear programas para

asegurar la inocuidad del alimento dando como resultado reducción casi total de su presencia en alimentos.

Referencias

1. Organización Mundial de la Salud. (2018). Inocuidad de los alimentos, [online]. Consultado: 18 mayo 2020.
2. Datta S, Akter A, Shah I G, Fatema K, Islam T H, Bandyopadhyay A, et al. (2012). Microbiological Quality Assesment of raw meat and meat products and antibiotics susceptibility of isolated *Staphylococcus aureus*. *Agríc. Food anal. Bacteriol* , **2** (3): 187 – 194
3. Organización Mundial de la Salud. (2013). Ingestión de sodio en adultos y niños, [online]. Consultado: 18 mayo 2020.
4. Cantwell M, Elliott C. (2017). Nitrates, nitrites and nitrosamines from processed meat intake and colorectal cancer risk. *Clinical nutrition*. **3** (47): 1 – 4
5. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. (08/09/2020). Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). [online]. Consultado: 15 septiembre 2020.
6. Martins A, Lino F M, Siqueira T M, Sampaio E. (2019). *Listeria monocytogenes* in ham sliced in supermarkets in Recife city, Pernambuco. *Arq. Inst. Biol.*, **86** (1): 1- 4.
7. Villa M. (2014). *Listeria monocytogenes* en comidas prepradas. *Eurocarne*. **230**: 69 – 79.
8. Leong D, Álvarez A, Jooste P, Jordan K. (2016). *Listeria monocytogenes* in food: control by monitoring the food processing enviroment. *Afr, J. Microbiol.* **10** (1): 1- 1.