

Calidad higiénica y sanitaria del queso elaborado artesanalmente y comercializado en Vallegrande

Méndez Gerardo; Serrano Ymbar; Espindola Roger

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno

E-mail de contacto: lalomendezprado@hotmail.com

Resumen. El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la UAGRM, con la finalidad de determinar la calidad higiénica y sanitaria de los quesos elaborados artesanalmente y expendidos en tres mercados de Vallegrande, durante el periodo de marzo y abril del año 2017. Se analizaron 15 muestras tomadas de los mercados. Con estas muestras se realizaron análisis cuantitativos, a través de la prueba para la detección de bacterias mesófilas aeróbicas, para el cultivo y conteo de coliformes fecales, *Staphylococcus aureus* y la prueba para la detección y aislamiento de *Salmonella* spp. En estas pruebas se utilizaron las normas de IBNORCA para la calificación de los resultados de análisis y pruebas. En el 100% de las muestras (15 de 15) se encontró presencia de bacterias mesófilas aerobias en cantidades superiores a las UFC/g aceptables. El 86.7% (13 muestras de quince) de las muestras, mostraron la presencia de coliformes fecales, valor que se encuentra por arriba de los porcentajes aceptables; el 93.3% (14 muestras de 15) con *Staphylococcus aureus*, muy por encima de los valores aceptables y el 20% (3 muestras) con presencia de *Salmonella* spp. Por medio de los resultados obtenidos en las pruebas de laboratorio y el análisis de cada una de las muestras, se determinó como deficiente a la calidad higiénica-sanitaria que presenta el queso artesanal que se expende en los mercados del municipio de Vallegrande.

Palabras clave: Inocuidad alimentaria; Derivados lácteos; Contaminación alimenticia

Introducción

El queso es un alimento que se disfruta en todo el Mundo. Su origen pueden ser anterior a la historia escrita, este sub-producto de la leche comparte casi las mismas propiedades nutricionales que la leche, pero tiene más grasas y proteínas concentradas.

Los quesos artesanales son alimentos ricos en proteína, calcio y fósforo y es una fuente de grasa animal.

A pesar del aporte de grasa del queso, se demostró que personas que son grandes consumidoras del mismo, no tienen mayor incidencia de enfermedades relacio-

nadas con el consumo de grasa, siempre que rijan su alimentación (Pardo 2015).

En la provincia Vallegrande, el queso fresco artesanal y el quesillo, son alimentos típicos de sus pobladores; estos productos son requeridos por la mayoría de los comunarios que consumen diariamente en el hogar y en sus jornadas laborales en el campo. Al no tener un adecuado control sanitario del queso, este representa un peligro potencial para los consumidores, porque es un medio de cultivo apropiado para la multiplicación y proliferación de ciertas bacterias que ocasionan problemas a la salud humana, dentro de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's).

En las últimas décadas, el problema mundial de las ETA's, se ha agudizado a causa de varios factores, es el caso de factores asociados como el crecimiento de la población, la pobreza, la urbanización en los países desarrollados, el mayor y creciente comercio internacional de alimentos para seres humanos y animales y la aparición de nuevos patógenos, o de cepas microbianas con mayor resistencia (FAO 2009).

Tomando en cuenta las políticas de salud, a nivel internacional, nacional y departamental, se pretende que los lugares de expendio de los quesos en el municipio de Vallegrande, cumplan con las normas de higiene y manipulación de alimentos, para cuidar la inocuidad alimentaria y la salud de los pobladores del municipio y de los visitantes que viajan a Vallegrande como destino turístico.

Los quesos y los derivados lácteos, son de gran importancia en las ETA's, en especial los quesos elaborados con leche sin pasteurizar, tal como se da en los pequeños productores de queso artesanal del municipio de Vallegrande; por esto, el trabajo de investigación se realizó con el propósito de conocer el estado higiénico y sanitario del queso que se expende en el municipio de Vallegrande, mediante la determinación de la carga bacteriana presente; datos que son muy importante para los pobladores y todas las personas que consumen el queso.

Con estos resultados, se puede iniciar cursillos de capacitación a los productores y comerciantes de cada uno de los mercados, a fin de hacerles conocer los peligros, de tal forma que asuman responsablemente las recomendaciones para mejorar la higiene, en la elaboración y comercialización de los quesos del municipio de Vallegrande.

Materiales y métodos

Jesús y Montes Claros de los Caballeros del Vallegrande, conocida simplemente como la ciudad de Vallegrande, está ubicada en la provincia del mismo nombre y pertenece al departamento de Santa Cruz.

Se seleccionó los tres mercados municipales (*Mercado Campesino*, *Mercado Abasto* y *Mercado Celso Camacho*) donde se expende queso elaborado artesanalmente. Se identificó en total 15 puestos de expendio de queso artesanal, de éstos se procedió a la toma de 5 muestras en cada uno de los mercados.

Las muestras se depositaron en recipientes estériles de plástico, con capacidad de 250 g. Las muestras se tomaron en forma aséptica y fueron depositadas inmediatamente en una conservadora refrigerada, para ser transportadas al laboratorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias, para su análisis correspondiente.

En laboratorio se corrieron pruebas bacteriológicas para determinar los indicadores de contaminación, tales como la cuantificación de bacterias mesófilas aeróbicas totales; prueba para la detección de coliformes fecales, *Staphylococcus aureus* y la detección de *Salmonella* spp. Estas se realizaron según lo establecido en las normas bolivianas de IB-NORCA.

Los datos obtenidos fueron analizados a través de frecuencias estadísticas absoluta y en escala porcentual.

El presente estudio se ejecutó durante los meses de marzo y abril del año 2017.

Resultados y discusión

Calidad higiénica y sanitaria del queso

La calidad higiénica y sanitaria del queso, refleja tanto el manejo del ganado, como el de la leche, durante y después de la ordeña y su procesamiento hasta llegar al puesto de expendio en los mercados.

El queso elaborado artesanalmente y comercializado en el municipio de Vallegrande, cuenta además con diferentes indicadores higiénico-sanitarios, los que fueron tomados en cuenta para la evaluación.

Los resultados del Cuadro 1, muestran que el queso artesanal de Vallegrande registra promedios significativos en cuanto al número de bacterias mesófilas, el análisis de laboratorio demostró que de las quince muestras procesadas y analizadas, el 100% muestran un nivel alto de contaminación con bacterias mesófilas aeróbicas; el 86.7% (13 muestras) estuvieron contaminadas por bacterias coliformes fecales; el 93.3% (14 muestras) con *Staphylococcus aureus* y en el 20% (3 muestras) se encontró presencia de *Salmonella* spp., siendo que en base a las normas de IBNORCA, debería haber ausencia de esta bacteria.

Todos estos resultados muestran una elevada carga bacteriana que sobrepasan los parámetros establecidos por la Norma Boliviana (IBNORCA).

La presencia de bacterias mesófilas aeróbicas en los tres mercados, es muy crítica al alcanzar un 100% de presencia, por encima de los niveles normales que exigen las normas de IBNORCA, esto da la pauta de la deficiente calidad higiénico-sanitario que presenta el queso artesanal que se expende a los diferentes mercados del municipio de Vallegrande.

De forma general, el *Mercado Campesino* es donde se evidencia una elevada carga bacteriana.

Con los resultados obtenidos, es muy difícil realizar una discusión, porque en el departamento solo existe un trabajo realizado por Turpo (2013), en el que encontraron 82.2% de contaminación por bacterias mesófilas aeróbicas y un estudio de Blanco (1996), que fue de 100% de contaminación, esto en los quesos criollos que se expenden en los mercados de Santa Cruz de la Sierra, que iguala al 100% que se encontró en el municipio de Vallegrande.

Presencia de coliformes fecales

En el Cuadro 2 se muestra la calidad higiénica del queso artesanal. Con los datos obtenidos se puede clasificar al queso según el grado de contaminación de las bacterias *coliformes fecales*, así se puede observar que del 100% (15 muestras) solo un 13.3% (2 muestras) se encuentran dentro de los parámetros y son considerados aptos para el consumo.

Cuadro 1. Contaminación bacteriológica del queso artesanal de Vallegrande

Total de muestras	Mesófilas aeróbicas		Coliformes fecales		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Salmonella</i> spp.	
	n	%	n	%	n	%	n	%
15	15	100	13	86.7	14	93.3	3	20

Cuadro 2. Calidad higiénica del queso artesanal expendido en los mercados de Vallegrande mediante las técnicas de recuento de bacterias coliformes fecales (UFC/g) (marzo - abril de 2017)

Parámetros	n	%
Consumible	2	13.3
Peligroso para el consumo (dosis infectiva alta)	2	13.3
Muy peligroso (dosis infectiva muy alta)	3	20.0
Extremadamente peligroso (dosis infectiva extremadamente alta)	1	6.7
Incontables (decomiso inmediato)	7	46.7
Total	15	100

Los resultados indican que de los tres mercados del municipio de Vallegrande, el *Mercado Abasto* presentó el menor porcentaje de coliformes fecales, con un 20% (3 muestras) y dos muestras que equivalen al 13.3 % estas están dentro de los parámetros aceptables para el consumo, lo que demuestra que el queso es de muy mala calidad higiénico - sanitario, por una mala manipulación, procedencia, refrigeración y conservación del producto. Se puede aplicar métodos físicos (pasteurización), para la destrucción de estos microorganismos.

Turpo (2013) encontró valores de contaminación con bacterias coliformes fecales de 84.5%. El estudio realizado por Blanco (1996), reporta una contaminación del 85.7%, valor similar al encontrado en el presente estudio en los mercados de Vallegrande.

El Cuadro 3 muestra datos del grado de contaminación con *Staphylococcus aureus*, en los quesos que se expende en los mercados. Considerando esos datos, solo

el 6.7% (1 muestra) es apta para el consumo por parte de la población.

Cuadro 3. Calidad higiénica del queso artesanal en los mercados de Vallegrande mediante la técnica de cultivo y recuento de *Staphylococcus aureus* (UFC/g) (marzo - abril de 2017)

Parámetros	n	%
Consumible	1	6.7
Peligroso para el consumo (dosis infectiva alta)	1	6.7
Muy peligroso (dosis infectiva muy alta)	3	20.0
Extremadamente peligroso (dosis infectiva extremadamente alta)	1	6.6
Incontables (decomiso inmediato)	9	60.0
Total	15	100

Los resultados indican que en ninguno de los mercados expenden queso de buena calidad y sanidad, ya que los datos obtenidos no están dentro de los parámetros aceptables para el consumo, lo que demuestra que el queso es de muy mala calidad higiénica / sanitaria, por una mala manipulación, refrigeración y conservación del producto.

Se puede aceptar a un 6.7% (1 muestra) que corresponde al queso clasificado como consumible, porque no demuestran una carga bacteriana exageradamente alta y se pueden aplicar métodos físicos (pasteurización), para la destrucción de estos microorganismos.

Turpo (2013) encontró contaminación con bacterias *Staphylococcus aureus* en un 93.3%; Blanco (1996) reportó 62.9%. Todos los resultados se encuentran por encima de lo establecido en la normativa boliviana.

En el Cuadro 4 se evidencia que el 20% (3 muestras) de los quesos que se expenden en el municipio de Vallegrande, dieron positivo a la presencia de *Salmonella* spp., este valor es considerado de extremo peligro para el consumo humano.

Cuadro 4. Aislamiento de *Salmonella* spp. en el queso artesanal que se expende en los mercados de Vallegrande (marzo - abril de 2017)

Resultado	n	%
Positivo	3	20
Negativo	12	80
Total	15	100

Conclusiones

- El queso artesanal que se expende en los mercados de Vallegrande, para el consumo de la población, es considerado de pésima calidad higiénica - sanitaria, debido al alto grado de contaminación bacteriana, lo que representa un grave peligro para la salud del público consumidor.
- El queso artesanal que se expende en los mercados de Vallegrande presenta una elevada contaminación con bacterias mesófilas aeróbicas (100%) por lo que posee una pésima calidad higiénica. Tomando en cuenta los datos del estudio, se puede concluir que en los tres mercados se expende queso artesanal, con una pésima calidad higiénica, por falta de cuidado en la elaboración, manipulación y/o conservación del producto; por lo que no se puede consumir crudo, como es costumbre en algunos tipos de comida, donde acompañan el queso con mote, pan, papa, etc.
- El 86,7% de las muestras tiene la presencia de coliformes fecales, valor muy por encima de los parámetros aceptables según las normas sanitarias, lo que empeora la situación higiénico - sanitario del queso artesanal que se comercializa.
- En los mercados de Vallegrande no existe el suficiente control sobre la venta de queso, ya que los puestos de venta están a la intemperie, sin refrigeración y expenden queso artesanal hasta en la calle, en recipientes que no se resguardan de la contaminación ambiental. Por lo tanto, se convierte en un peligro para la salud de la población consumidora.
- La calidad sanitaria del queso artesanal de Vallegrande es alarmante, ya que según la investigación, la presencia de *Salmonella* spp. alcanza un 20%, lo que demuestra que esta zoonosis está latente en la población.
- Las personas que venden queso en los mercados, no poseen la suficiente capacitación para entender el efecto higiénico - sanitario que causa la presencia de sustancias extrañas a los alimentos como el queso, esto se observó en la encuesta que se realizó al inicio de la investigación.
- Es posible que los productores de queso que abastecen los mercados, no aplican buenas prácticas de manejo (higiene y limpieza en el ordeño, manipulación y en la conservación del queso artesanal), por lo que es necesario aplicar normas que lleguen a cada uno de los eslabones de la producción primaria y controlen el expendio de este producto en los mercados.

- No existe suficiente control en el expendio de queso, porque se pudo evidenciar que no se cumple con las normas establecidas como ser uso de vestimenta apropiada, utilización de barbijos y guantes. Al no tener todas estas condiciones y no regirse a las normas, el producto esta propenso a contaminarse.
- Brindar capacitación a los comercializadores de queso, aplicando buenas prácticas higiénicas para la conservación, manipuleo y expendio del producto.

Recomendaciones

- Hacer conocer a las autoridades del municipio de Vallegrande los resultados del presente trabajo de investigación, y en base a ello, asesorar y recomendar acciones para revertir esta situación.
- Brindar apoyo y capacitación para educar al productor lechero, a fin de que realice un apropiado ordeño y manipuleo higiénico - sanitario de la leche.
- Hacer conocer y entender la importancia de la pasteurización de la leche utilizada para la elaboración del queso y otros subproductos.
- Controlar la forma de conservar y trasportar el producto, de manera que se evite la contaminación del queso artesanal (buenas prácticas de conservación).

Referencias citadas

- Blanco E. 1996. Control de calidad de los quesos San Javier y Menonitas que se expenden en los mercados de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra - 1996. Tesis de grado. Tecnología de Alimentos. UAGRM. 87 p.
- FAO. 2009. Informe Técnico sobre Ingeniería Agrícola y Alimentaria. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Ed. Cadmo Rosell. División de Infraestructura Rural y Agroindustrias de la FAO. pp. 8 - 14.
- Pardo J. 2015. Quesos Artesanales. *En línea* Disponible en: www.quesosartesanales.es/index.php
Consultado en agosto de 2016.
- Turpo R. 2013. Calidad higiénica del queso criollo expendido en los mercados de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra - 2013. Tesis de grado Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UAGRM. pp. 2.

Efecto del pH sobre la conservación de carne bovina envasada al vacío y almacenada en frigorífico

Camacho Deisy; Huarachi Cinthia; Asfura Jorge

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno

E-mail de contacto: cinthia.huarachi_1502@hotmail.com

Resumen. El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el periodo de vida útil de la carne bovina, en tres rangos de pH, envasada al vacío y almacenada durante tres meses, a una temperatura de 0°C. El trabajo fue realizado en los meses de febrero a mayo del año 2016. Se analizó un total de 120 muestras, de las cuales. El 38.3% estuvieron dentro de los niveles establecidos por norma y el 61.7% sobrepasan los estándares establecidos. Durante este periodo, se cuantificó el desarrollo de microorganismos responsables del deterioro y se evaluó las características sensoriales de la carne cocida, en tres rangos de pH: <5.8, 5.9 y de 6 a 7. Para el análisis microbiológico, se realizaron los recuentos de bacterias mesófilas totales con una media de 8.348.298,92 ufc y *Escherichia coli* con una media de 2 ufc, así como el análisis sensorial, éstos se realizaron en el tiempo cero, al primer, segundo y tercer mes de almacenamiento; los jueces evaluaron el sabor, olor y textura de la carne. Los resultados demostraron que el desarrollo de las bacterias alcanza mayor crecimiento en las carnes con pH de 5.9 y 6-7, mostrando una diferencia de medias altamente significativa ($p < 0.05$). Por otro lado, para la bacteria *Escherichia coli*, presentó menor desarrollo, por debajo de los niveles establecidos por la norma 310017. No se observó diferencia estadística significativa por mes, para *E. coli* ($p > 0.05$), sí hubo una elevada diferencia significativa para la presencia de bacterias aerobias ($p < 0.0001$) por meses. En cuanto a los demás parámetros del análisis sensorial, no se presentaron variaciones hasta el segundo mes de conservación. A partir de esa fecha, la carne presentó evidentes signos de deterioro. Se concluye que la carne con pH mayor a 5.9, no debe ser envasada al vacío durante los tres meses establecidos, al no poder conservar las características sensoriales y microbiológicas aceptables para el consumo humano.

Palabras clave: Inocuidad alimenticia; Bacteriosis; Contaminación alimenticia

Introducción

Las exportaciones de carne bovina del MERCOSUR durante el año 2014, dejaron como saldo, un aumento en volúmenes del 6%, con respecto a igual periodo del año anterior. La composición por país de las exportaciones del MERCOSUR en el año 2014 fue: 65% Brasil, 15% Paraguay 13% Uruguay y 7% Argentina. (Dirección Nacional de Estudios y Análisis Económico del Sector Pecuario, 2015).

La situación de Bolivia, en cuanto a exportaciones de carne al exterior, ha ido mejorando en los últimos años gracias a la certificación otorgada por la OIE, de país libre de fiebre aftosa.

El presidente de la Confederación de Ganaderos de Bolivia (CONGABOL), Fernando Menacho, manifestó que la certificación obtenida es un hecho histórico para el país: ... esta clasificación significa romper la barrera sanitaria que nos tenía aislada y no nos

permitía competir en igualdad de condiciones, con otros países que tenemos a nuestro alrededor

Bolivia necesita todos los mercados posibles para los productos que hoy pueden generarle valor agregado a la economía del país, el sector cárnico ha desarrollado durante los últimos 20 años, una industria con capacidad competitiva a nivel mundial (Cámara de Exportadores, Logística y Promoción de Inversiones de Santa Cruz - CADEX 2016).

El consumo anual llega a 217.687 toneladas o 217,7 millones de kilos, con un consumo *per cápita* anual de 20,35 kg. Las regiones productoras de carne bovina son Santa Cruz y Beni, y las ciudades de mayor consumo son Santa Cruz, La Paz y Cochabamba, con 71%. Hoy en día, la región de Santa Cruz encabeza los índices de desarrollo en Bolivia y tiene el mayor crecimiento del país en población y creación de riqueza, es por esto que se ha tomado este desafío de innovar y ser líder en la industria cárnica con productos de valor agregado, ofreciendo calidad e inocuidad, porque el consumidor boliviano los exige cada vez más. Además de la exportación, el principal desafío de las industrias cárnicas, es hacer evolucionar el mercado boliviano hacia estándares cada vez más altos, en beneficio del consumidor.

La diversificación de la oferta de los frigoríficos, con productos de valor agregado de cortes especializados de elaboración al vacío, son otras de las estrategias que hacen de la industria cárnica nacional una empresa en creciente desarrollo, ya que para ellos lo principal es ofrecer productos inocuos, higiénicos y de buena calidad.

Como industria líder en alimentos, el *Frigorífico del Oriente S.A. FRIDOSA*, trata de ir siempre a la vanguardia, en cuanto a la innovación de nuevas técnicas de preservación de productos cárnicos envasados al vacío, es por ello que en su intento de mejorar la vida útil de sus productos, se realizan diferentes estudios e investigaciones, sobre cómo mejorar las calidad de sus cortes elaborados. Viendo esta necesidad, se realizó este trabajo enfocado a determinar la durabilidad de un corte que tiene variantes de pH, queriendo así contribuir al desarrollo de mejores técnicas y procedimientos, para aumentar la durabilidad de sus productos. Es por esta razón, que en el presente estudio se ha considerado como fundamental evaluar para la región tropical de Bolivia, el tiempo de vida útil de la carne envasada al vacío, mediante el desarrollo de microorganismos y las características sensoriales de ésta, almacenada a 0°C por 3 meses. Esto permitirá controlar el estado del producto, evitando pérdidas económicas y riesgos para la salud de los consumidores, además de poder ofrecer una carne más tierna y prolongar la vida de estantería.

Materiales y métodos

El *Frigorífico del Oriente SA*, conocido como FRIDOSA, se encuentra ubicado en la ciudad de Santa Cruz, carretera a Cotoca, km 10½, ciudad rodeada por fértiles y extensas llanuras tropicales, ideales para la cría de ganado vacuno de alto rendimiento cárnico.

Para el estudio se tomaron en cuenta las carcasas que ingresaron a la sala de desposte, midiendo el pH 48 horas *post mortem*, durante los tres meses de estudio.

Método de muestreo

Todas las muestras fueron tomadas en la sala de desposte de FRIDOSA. Los análisis microbiológicos y sensoriales, se realizaron en el laboratorio de microbiología y evaluación sensorial, el almacenamiento de la carne envasada al vacío (de 0°C ± 1°C) por tres meses, también se realizó en las instalaciones de FRIDOSA.

La materia prima utilizada fue la carne de vacuno de animales de categoría novillo, obtenidas en la industria FRIDOSA. Se trabajó con el corte delantero (paleta), que corresponde al músculo tríceps braquial.

Se utilizaron 10 animales por rango de pH, de la siguiente manera:

< 5.8	pH normal
5.9	pH intermedio
6 a 7	pH alto

sumando un total de 30 cortes de paleta por los diferentes rangos de pH. Las muestras fueron obtenidas dentro de las 48 horas posteriores a su faenamiento, fueron envasadas al vacío y almacenadas en la misma empresa.

Control de pH en la carne

Para la selección de las muestras se realizó la medición de pH en la cámara de frío de la empresa, a cada canal del animal y fue medido 48 horas posterior al faeneo, utilizando un pe-achímetro con electrodo de punción (testo 230), el que fue calibrado con sus respectivos buffer. Posteriormente se realizó un seguimiento para obtener el corte de paleta. Una vez obtenido éste, con un cuchillo previamente esterilizado, se procedió a hacer una división del mismo, obteniendo cuatro mues-

tras de un solo corte, envasando al vacío cada uno de ellos, con el equipo disponible en la planta de FRIDOSA.

Almacenamiento

El almacenamiento de la carne envasada al vacío, tanto para los análisis sensoriales como microbiológicos, se realizaron dentro de cajas de cartón, las cuales se mantuvieron en la cámara de refrigeración a una temperatura de 0°C ± 1°C de la industria FRIDOSA.

Método de laboratorio

Se utilizó el método de *Petrifilm Placa* (NB 32020 (AOAC 991.14) para recuento de *Escherichia coli*. Los aerobios mesófilos totales bajo la norma NB 32003 o NB 32016 (AOAC 990.12).

Análisis sensorial

Para el análisis sensorial, las evaluaciones se realizaron en un bife por cada número de animal muestreado, que fueron sometido a cocción. Se cortaron los bifes en trozos de aproximadamente 3 cm de ancho para la correspondiente evaluación sensorial.

Se evaluaron atributos de sabor, olor y textura de la carne (Cuadro 1), con lo cual se pretendió determinar la calidad y el tiempo de vida útil que éstas puedan tener. El tiempo de realización de las muestras fue en la misma fecha que los análisis microbiológicos, tomando como tiempo 0 el análisis inicial, al primer mes, al segundo mes y al tercer mes.

Análisis estadístico

Se aplicó la prueba de DMS y Tukey para ver si existe diferencia significativa al 5% y 1%.

Cuadro 1. Parámetros para análisis sensorial según los rangos de pH

Parámetros		Inicial	1er. mes	2do. mes	3er. mes	
Sabor	Crudo	No procede	-----	-----	-----	-----
	Cocido	Propio de la carne bovina	Propio	Propio	Ligeramente ácido	Ácido
Color	Crudo	Rojizo brillante	Rojizo	Rojizo	Rojo opaco	Marrón
	Cocido	Propio de la carne cocida	Propio	Propio	Propio	Marrón
Olor	Crudo	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Característico carne madurada	Característico carne madurada
	Cocido	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Característico carne madurada
Textura	Crudo	Normal	Normal	Normal	Ligeramente blanda	Blanda
	Cocido	Normal	Normal	Normal	Ligeramente blanda	Ligeramente blanda

Fuente: Frigorífico del Oriente S.A. FRIDOSA

Resultados y discusión

Estudio del desarrollo de diferentes microorganismos entre rangos de pH de la carne

En el estudio microbiológico, se analizó la presencia de dos microorganismos, para determinar la factibilidad de envasar la carne de bovino al vacío, con un pH mayor a 5.9.

Los microorganismos estudiados fueron bacterias aerobias mesófilas totales y *Escherichia coli*. Los recuentos fueron realizados cada mes, partiendo del día cero hasta el tercer mes.

Se demuestra que el promedio de mesófilos totales para los tres grupos, fue de 8.348.298 unidades formadoras de colonia (ufc), notándose una tendencia de incremento por mes; los niveles de ufc se encuentran por encima de los niveles estándares.

Por otro lado, la bacteria *E. coli* tuvo un promedio de 2 ufc, valor que se encuentra por debajo de los niveles establecidos por norma. No se observó diferencia estadística significativa por mes, para ninguno de los dos microorganismos ($p > 0.05$).

Bacterias aerobias mesófilas totales

El recuento de aerobios mesófilos, expresado en \log UFC/g, varió entre los grupos de pH. El análisis de varianza demostró que hubo diferencia significativa ($p < 0.05$).

Al comparar el recuento de aerobios mesófilos de la carne envasada al vacío, entre los tres grupos de pH, con los límites fijados por la norma boliviana IB-NORCA ($1 \cdot 10^5$ ufc/g) para carne roja, fresca, refrigerada y/o congelada, se observa que las muestras de carne, presentaron recuentos por encima de lo permisible, con una media de 8.348.298,92 ufc.

Análisis sensorial

Los atributos analizados fueron: sabor, color, olor y textura los que fueron evaluados en carne cocida. Éstos se evaluaron desde el inicio hasta el final de la prueba, por otro lado, durante el primer mes hasta el tercer mes, la carne se man-

tuvo en condiciones de envasado al vacío y almacenada a 0°C.

Los cuadros 2, 3 y 4, presentan los resultados obtenidos en esta variable subjetiva, para los tres rangos de pH considerados.

Cuadro 2. Resultados de evaluación sensorial en los tres tiempos por rango de pH <5.8, analizados en carne envasada al vacío, almacenada a 0°C ± 1°C

Parámetros			Inicial	1er. mes	2do. mes	3er. mes
Sabor	Crudo	No procede	-----	-----	-----	-----
	Cocido	Propio de la carne bovina	Propio	Propio	Característico carne madurada	Característico carne madurada
Color	Crudo	Rojizo brillante	Rojizo	Rojizo	Rojo opaco	Marrón
	Cocido	Propio de la carne cocida	Propio	Propio	Rojo opaco	Marrón
Olor	Crudo	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Característico carne madurada	Residual
	Cocido	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Característico carne madurada
Textura	Crudo	Normal	Normal	Normal	Ligeramente blanda	Blanda
	Cocido	Normal	Normal	Normal	Ligeramente blanda	Blanda

Cuadro 3. Resultados de evaluación sensorial en los tres tiempos por rango de pH 5.9 analizados en carne envasada al vacío, almacenada a 0°C ± 1°C

Parámetros			Inicial	1er. mes	2do. mes	3er. mes
Sabor	Crudo	No procede	-----	-----	-----	-----
	Cocido	Propio de la carne bovina	Propio	Propio	Característico carne madurada	Ácido
Color	Crudo	Rojizo brillante	Rojizo	Rojizo	Rojo opaco	Marrón
	Cocido	Propio de la carne cocida	Propio	Propio	Marrón	Marrón
Olor	Crudo	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Característico carne madurada	Residual
	Cocido	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Residual	Residual
Textura	Crudo	Normal	Normal	Normal	Ligeramente blanda	Blanda
	Cocido	Normal	Normal	Normal	Ligeramente blanda	Blanda

Cuadro 4. Resultados de evaluación sensorial en los tres tiempos por rango de pH 6-7 analizados en carne envasada al vacío, almacenada a 0°C ± 1°C

Parámetros		Inicial	1er. mes	2do. mes	3er. mes	
Sabor	Crudo	No procede	-----	-----	-----	
	Cocido	Propio de la carne bovina	Propio	Propio	Ligeramente ácido	Ácido
Color	Crudo	Rojizo brillante	Rojizo	Rojizo	Rojo opaco	Marrón
	Cocido	Propio de la carne cocida	Propio	Propio	Marrón	Marrón
Olor	Crudo	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Ligeramente ácido	Residual
	Cocido	Cárnico	Cárnico	Cárnico	Residual	Residual
Textura	Crudo	Normal	Normal	Normal	Ligeramente blanda	Blanda
	Cocido	Normal	Normal	Normal	Ligeramente blanda	Blanda

Las bacterias aerobias mesófilas proporcionan información acerca del número de bacterias viables, por lo que representan un recurso valioso adicional para determinar el grado de exposición de los alimentos a la contaminación por microorganismos. El recuento de estos organismos representa un respaldo al significado atribuido a los resultados de los análisis de los coliformes.

Durante la determinación de bacterias aerobias mesófilas, se observaron valores muy variados, dentro de los diferentes lugares de muestreo. Esta variación puede deberse a factores tales como el pH final de la carne, la temperatura y el tiempo de almacenamiento (Milla *et al.* 2004; Morales 2003).

Conclusiones

- El análisis microbiológico de los cortes de carne, envasada al vacío, en los diferentes rangos de pH las bacterias aerobias mesófilas, representa un recurso valioso para determinar el grado

de exposición de los alimentos a la contaminación por microorganismos.

- Durante la determinación de las bacterias aerobias mesófilas, se observaron valores altos muy variados dentro de los diferentes rangos de pH, esta variación se debe principalmente a la influencia marcada de variables tales como: el pH final de la carne demostrando los resultados que es altamente significativo para el de desarrollo de microorganismos ($p < 0.05$), para el grupo de pH (<5.8) el crecimiento de microorganismos fue menor en comparación con el grupo de pH (6-7), la temperatura y el tiempo de almacenamiento también son factores influyentes.
- Mediante el análisis sensorial los resultados obtenidos tuvieron diferencias significativas entre los rangos de pH ($p < 0.05$), siendo mayor en el grupo de pH alto (6-7) en los demás grupos no presentaron diferencias significativas ($p > 0.05$).

Referencias citadas

Cámara de Exportadores, Logística y Promoción de Inversiones de Santa Cruz - CADEX. 2016. Blog de Comercio Internacionales CADEX, Santa Cruz, Bolivia. Exportaciones, Logística e inversiones de Santa Cruz-Bolivia. *En línea*. Disponible en:

<https://cadexbolivia.wordpress.com/2016/06/02/exportadores-ven-panorama-alentador-para-el-sector-ganadero/>

Consultado en julio de 2016

Dirección de Estudios del Sector Pecuario. Dirección Nacional de Estudios y Análisis Económico del Sector Pecuario 2015. Ministerio de Agro Industria Presidencia de la Nación Argentina. Subsecretaría de Ganadería. Análisis comparativo de exportaciones de carne bovina en MERCOSUR. *En línea*. Disponible en:

<http://decisionganadera.com.ar/wp-content/uploads/2015/01/>

Minagri-Informe-de-exportaciones-de-carne-bovina-MERCOSUR-al-11-2014.pdf

Consultado en julio de 2016.

Milla R., Izquierdo P., Allamara M., Torres G., García A., Bardoza Y. 2004. Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la calidad microbiológica y la producción de histamina en la lisa (*Mugil curema*). Revista Científica, FCV-LUZ. 2003 13:5 pp. 8. *En línea*. Disponible en: <http://www.geocities.com/capecanaveral/galaxy/4683/vete135-1.pdf> Consultado en agosto de 2016.

Morales G., Blanco L., Arias M., Chaves C. Evaluación de la calidad microbiológica de tilapia fresca (*Oreochromis niloticus*) proveniente de la Zona Norte de Costa Rica. 2003. ALAN. 2004 54:4 pp. 8. *En línea*. Disponible en:

http://www.alanrevista.org/ediciones/2004_4/evaluacion_calidad_bacteriologica_tilapia_fresca.asp Consultado en agosto de 2016.

Estandarización de la prueba PCR para la detección de *Salmonella* spp. en carne de pollo expendida en mercados públicos de Santa Cruz de la Sierra

Ruiz Griselda; Nava David

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno

E-mail de contacto: cargris@hotmail.com

Resumen. El presente trabajo de investigación fue realizado con la finalidad de estandarizar la prueba de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convencional, para el diagnóstico de *Salmonella* spp. en carne de pollo. El estudio se ejecutó de octubre a diciembre del año 2013, en mercados públicos de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, ubicados en los 12 distritos y estuvo representado por los puestos que expenden carne cruda de pollo. Se obtuvieron 112 muestras de carne de pollo de puestos de venta de 28 mercados, la asignación de mercados por distrito, estuvo sujeta a un diseño aleatorio estratificado. Al momento del muestreo, se registró la temperatura de la carne de pollo, proveedor y procedencia; las muestras se colocaron en bolsas estériles de polietileno individuales, se refrigeraron y fueron enviadas al laboratorio PROVETSUR (FCV-UAGRM). Del total de muestras, mediante la técnica de PCR convencional, se detectaron 4 positivos (sensibilidad 100% y especificidad 98%) en comparación con la prueba de cultivo, con la cual solo se detectaron 2 muestras positivas. La proporción de muestras de carne de pollo positivas a *Salmonella* spp., obtenidas de los 112 puestos de mercados, fue de 3.57%. En los distritos 4, 7 y 8, se identificaron 3 mercados ("I", "P" y "Q" respectivamente), lo que representó el 10.71% del total de mercados evaluados. El mayor número de muestras positivas a *Salmonella* spp. (3 de 4) registraron temperaturas mayores a 29.1°C. En conclusión, la implementación de la PCR convencional, es una herramienta base para la detección de *Salmonella* entérica, que podría utilizarse a futuro para diferentes matrices, pues la transmisión de este patógeno se asocia no sólo con la carne de pollo cruda, sino con otros alimentos de origen animal.

Palabras clave: Inocuidad alimentaria; Avicultura; Contaminación alimenticia

Introducción

El consumo de carne de pollo en todo el Mundo, se ha incrementado en los últimos años debido a su precio comparativamente bajo, cuando se compara con otras carnes, además por ser una excelente fuente de proteína (FAO 2014).

La producción estimada mundial de carne de ave, para el año 2012, fue de 104.9 millones de toneladas, con un pronóstico para 2013 de 106.8 millones de toneladas, lo que implica un aumento del 1.8%,

siendo la carne que mayor crecimiento muestra en cuanto a producción mundial (FAO 2014).

El Instituto Boliviano de Comercio Exterior (IBCE 2014) informó que entre 2008 y 2013, la producción de carne de pollo en Bolivia subió 35% (de 294.000 a 396.000 toneladas/año).

Entre los años 2005 y 2012, Santa Cruz fue el principal proveedor de carne de pollo, con un promedio de 54% del total de la producción nacional.

Si bien tuvo una disminución leve el año 2011, cuando llegó a 49,39%, en el siguiente año recuperó su nivel de producción.

La Salmonelosis es a nivel mundial una de las principales zoonosis, se calcula de 2 a 4 millones de casos de Salmonelosis que ocurren cada año, a nivel mundial. Solo el 1% de los informes reciben atención por las autoridades de salud pública.

Las carnes y embutidos son los alimentos que con mayor frecuencia se contaminan con este microorganismo (69,5%). Así se tiene reportes donde el 41% de muestras de chorizos, resultaron contaminados con la bacteria (Alexandre *et al.* 2000).

Entre los patógenos bacterianos que clásicamente están implicados en las Enfermedades transmitidas por Alimentos (ETA's) están: *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Clostridium botulinum* y los "nuevos" o emergentes, como *Escherichia coli O157*, *Listeria monocytogenes* y *Campylobacter* (Minor 1987).

Los métodos tradicionales reconocidos por los organismos oficiales, para la identificación de *Salmonella* spp., tienen alta sensibilidad, pero demandan una gran cantidad de tiempo hasta llegar al diagnóstico, porque requieren el aislamiento de colonias sospechosas y su confirmación por pruebas bioquímicas y de serotipificación (Quevedo 2002).

Estudios realizados en otros departamentos de Bolivia, advierten que se debe tener un mejor control en la manipulación de alimentos en mercados públicos de nuestro departamento, la falta de conocimientos técnicos en materia de conservación y manipulación, por parte de los comerciantes de estos productos, el transporte inadecuado, infraestructura inapropiada y

legislación incumplida, convierten el escenario donde se manipulan los alimentos, en verdaderos recintos de contaminación (Sánchez 2013).

Es por eso que el objetivo del presente estudio, fue estandarizar la prueba Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) para la detección de *Salmonella* spp., en carne de pollo expandida en mercados públicos de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra.

Materiales y métodos

El trabajo de investigación se realizó en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra provincia Andrés Báñez y se llevó a cabo en mercados municipales en los que existen puestos de venta donde se expende carne de pollo cruda.

La ciudad tiene un clima semi-tropical, con una temperatura promedio de 21°C en invierno y 32°C en verano.

La superficie total del departamento es de aproximadamente 370.621 km². La población estimada es de 2.655.084 habitantes (INE 2012).

Unidad de muestreo

Estuvo representada por los puestos de venta que expenden carne cruda de pollo, en mercados municipales, distribuidos en los 12 distritos de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra.

Para el presente estudio se siguió un modelo epidemiológico de tipo transversal, considerando el periodo octubre a diciembre de 2013, para la recolección de muestras.

La asignación de los 15 mercados municipales de los seis distritos, estuvo sujeta a un diseño aleatorio estratificado propuesto por Thrusfield (1990). De cada mercado se tomaron muestras “clúster” del total de puestos seleccionados (4 puestos por mercado).

Método de campo

La toma de muestra se realizó siguiendo la metodología descrita por la FAO (2010).

De cada puesto se obtuvieron 3-4 piezas de muslo y/o piernas de pollo con un peso de 250 gramos aproximadamente. Con un termómetro Lasser, se registró la temperatura de las mismas, para posteriormente colocarlas en bolsas estériles de polietileno individuales, herméticamente cerradas y debidamente identificados y refrigeradas, aproximadamente a 4°C, en conservadoras para su transporte al laboratorio PROVETSUR (*Área de Bacteriología*).

Método de laboratorio (PCR convencional)

Extracción de ADN. A partir del caldo de pre enriquecimiento, se obtuvo 1 ml y las muestras fueron sometidas a extracción de ADN, utilizando el kit comercial *DNA purificación Wizard (Promega®)* de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. El ADN extraído fue identificado y almacenado a -20°C hasta su procesamiento.

PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Se emplearon iniciadores que amplifican un fragmento de 412 pb del gen *phoP* propuesto por el laboratorio de bacteriología INTA de Balcarce Argentina (Velilla *et al.* 2003), las muestras fue-

ron procesadas en el laboratorio PROVETSUR de la FCV de la UAGRM.

Los primers utilizados en la PCR, estuvieron basados en la secuencia presente en todas las salmonellas: Salmo F: TAT GCG CGG TAG CGG TAG CGG CGT GTT GT; Salmo R: GGC AAT GAT CTG CCC GGC GTA TTG T (Sigma Aldrich).

Electroforesis de ADN en gel de agarosa. Los productos amplificados fueron sometidos a electroforesis en gel horizontal, 1% de agarosa, teñido con *CyberSafe (Sigma – Aldrich®)* (0,5 µl/ml) en tampón TBE 0.5X. La electroforesis se realizó durante 30 minutos a 90V/100mA.

Análisis estadístico

Los datos fueron ingresados a una base de datos y el análisis estadístico se realizó empleando el Software Epidat 3.1 (Xunta de Galicia OMS-OPS). Para determinar la sensibilidad y especificidad, se realizó una tabla de contingencia de 2 * 2. Para evaluar las diferencias en las proporciones de distrito, mercado, puesto, temperatura, se utilizó la prueba de Chi - Cuadrado de Pearson (χ^2), basado en una probabilidad de $p < 0.05$ y un IC de 95%.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio, demuestran la presencia de *Salmonella* spp. en carne de pollo cruda, expendida en mercados públicos de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, sugiriendo como una de las posibles fuente de contaminación, la falta de las buenas prácticas de manipulación y conservación de estos productos de origen animal.

Sensibilidad y especificidad de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el diagnóstico de *Salmonella* spp. en carne de pollo

En el Cuadro 1 se describe el análisis del cuadro de contingencia 2 * 2 entre técnicas de Cultivo Bacteriológico y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), para el diagnóstico de *Salmonella* spp., donde se compara la sensibilidad y especificidad obtenida de la PCR versus la técnica de referencia (ISO 6579:2002), la cual se basa en métodos tradicionales de cultivo.

En el Cuadro 1 se comparó la sensibilidad del método tradicional versus el método alternativo (PCR convencional) para la detección de *Salmonella* spp., donde los valores de esta última indican una sensibilidad de 100% y especificidad de 98%. Mediante la técnica de PCR se detectaron cuatro muestras positivas de *Salmonella* spp., de las cuales por el mé-

todo de referencia solo se aisló en dos muestras, sin embargo hubo una coincidencia entre positivos y negativos, que se detectaron por las dos técnicas.

Las posibles causas para que esto sea posible, podrían ser que dichas cepas de *Salmonella* spp., muestran perfiles bioquímicos atípicos, razón por la cual no pueden ser detectadas por la bacteriología tradicional (Bennett *et al.* 1998) y también que las células pueden estar presentes de manera viable pero no cultivable (Velásquez 2005).

Detección de *Salmonella* spp. en carne de pollo expendida en la ciudad de Santa Cruz de la Sierra según mercados y distritos

De un total de 28 mercados, en tres se encontró muestras positivas a *Salmonella* spp. lo cual representa el 10,71% (Cuadro 2).

Cuadro 1. Cuadro de contingencia 2 * 2 entre técnicas de cultivo bacteriológico y la PCR, de puestos de carne de pollo positivos a *Salmonella* spp. en mercados públicos de la ciudad de Santa Cruz

		Cultivo bacteriológico		Total
		+	-	
PCR	+	2	2	4
	-	0	108	108
Total		2	110	112

Sensibilidad	100%
Especificidad	98%

Cuadro 2. Proporción de mercados públicos de la ciudad de Santa Cruz con detección de muestras positivas a *Salmonella* spp.

Mercados	Positivos PCR		IC 95%	
	n	%	Mínimo	Máximo
28	3	10.71	2.27	28.23

En el presente estudio de investigación se asumió una prevalencia esperada del 50%, con un intervalo de confianza del 95%, por lo cual solo se muestrearon 28 mercados, de los cuales se detectó un 10.71% de prevalencia de *Salmonella* spp., lo cual estuvo representada por 3 mercados del total.

La importancia de los resultados obtenidos, radica en que según el Instituto Boliviano de Normalización y Calidad (IBNORCA 2008), entre los años 2005 y 2012, la ciudad de Santa Cruz, aumentó su consumo *per cápita* de carne de pollo (29.85 kilos por persona), además que actualmente es considerado el principal proveedor de carne de pollo, con un promedio de 54% del total de la producción nacional y es importante considerar que el lugar de mayor expendio de carne de pollo, es precisamente en los mercados públicos, municipales, privados o usu-

fructos, donde más del 50% de la población asiste a abastecerse de este producto (Espinoza *et al.* 2007).

En el Cuadro 3 se observa la proporción general (3.57%) de muestras de carne de pollo positivas a *Salmonella* spp., obtenidas de 112 puestos de venta ubicados en 28 mercados la ciudad de Santa Cruz de la Sierra.

La Figura 2 grafica los resultados de la PCR, donde se tiene positivos al fragmento 412 pb de *Salmonella* spp. en un gel de agarosa teñido con *CyberSafe* (*Sigma - Aldrich*®).

Los carriles 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 11 son negativos a *Salmonella* spp., mientras que los carriles 7, 8, 9 y 10 son positivos a *Salmonella* spp. (Caril + control positivo y Caril - control negativo).

Cuadro 3. Detección de *Salmonella* spp. por PCR en puestos de venta de carne de pollo de mercados públicos de la ciudad de Santa Cruz

Puestos de venta de carne de pollo	Positivos PCR		IC 95%	
	n	%	Mínimo	Máximo
112	4	3.57	0.98	8.89

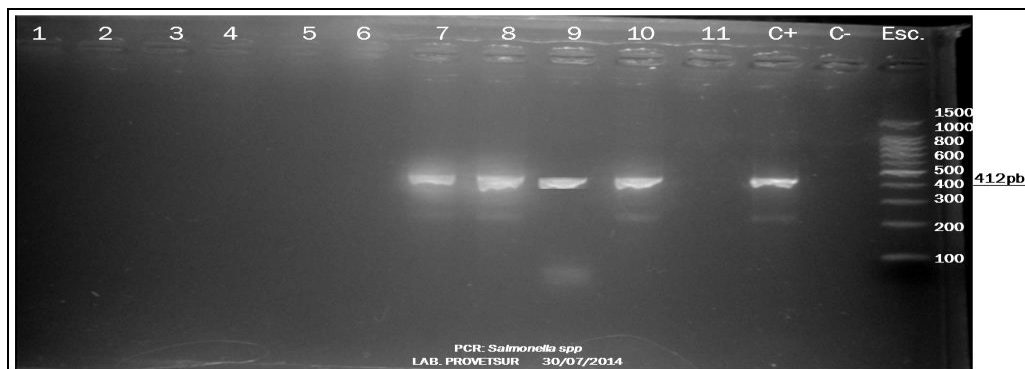


Figura 2. PCR Convencional para la identificación de *Salmonella* spp. en muestras de carne de pollo expendida en mercados municipales de la ciudad de Santa Cruz

En el año 2010, la Unión Europea publicó un estudio sobre *Salmonella* spp. en carne de pollo, donde estimaron una prevalencia de 15.7%. En ese mismo estudio se observó importantes variaciones en la prevalencia entre los estados miembros de la Unión Europea, que van desde 0% a 26.6%. Finlandia, Estonia, Dinamarca, Luxemburgo y Suecia, mostraron prevalencias de 0%, lo que demuestra que los países pueden tomar las medidas adecuadas para disminuir la prevalencia de *Salmonella* spp. en los productos cárnicos (SENASA *et al.* 2011).

Si bien el porcentaje general de *Salmonella* spp. en el presente estudio fue de 3.57% (Cuadro 3), que es un valor menor a los reportados por otros trabajos de investigación en Bolivia, es importante considerar que aparentemente estos datos se obtuvieron del RELOAA (Red de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos) y fueron en un periodo de 6 años (2000 a 2006); si se toma la sero-

prevalencia de 26% de *Salmonella* spp. en la carne de pollo, correspondería a 4.3% por año. El presente estudio se realizó en 3 meses, de octubre a diciembre de 2013 y es importante considerar que el número de muestras en el presente trabajo de investigación, fue aceptable para el diseño que se utilizó. De los doce distritos evaluados, en tres de ellos (distritos 4, 7 y 8) se detectaron mercados con puestos de venta de muestras de carne de pollo positivas a *Salmonella* spp. (Cuadro 4).

Detección de Salmonella spp. en carne de pollo, según temperatura de conservación y procedencia

La temperatura de la carne de pollo obtenida al momento del muestreo, en mercados públicos, oscilaba entre 10°C a 32°C (Cuadro 5); la mayor proporción de muestras positivas a *Salmonella* spp., se registró en aquellas muestras con temperaturas mayores a 29.1°C.

Cuadro 4. Proporción de muestras de carne de pollo positivas a *Salmonella* spp. según distrito municipal de la ciudad de Santa Cruz

Distritos	n	Identificación de mercados	Positivos	%	I.C. 95%	
					Min.	Max.
1	8	A,B	0	0,00	0,00	36,94
2	12	C,D,E	0	0,00	0,00	26,48
3	12	F,G,H	0	0,00	0,00	26,48
4	16	I*,J,K,L	1	6,25	0,16	30,23
5	4	M	0	0,00	0,00	60,24
6	8	N,Ñ	0	0,00	0,00	36,94
7	8	O,P*	1	12,50	0,31	52,65
8	12	Q*,R,S	2	16,66	2,08	48,41
9	8	T,U	0	0,00	0,00	36,94
10	8	V,W	0	0,00	0,00	36,94
11	12	X,Y,Z	0	0,00	0,00	26,46
12	4	AA	0	0,00	0,00	60,24
Total	112	--	4			

($p \geq 0.05$)

*: Mercados positivos

Cuadro 5. Temperatura promedio de muestras de carne de pollo positivas a *Salmonella* spp. expandida en puestos de mercados públicos de la ciudad de Santa Cruz

Temperaturas (°C)	n	Positivos	Negativos	Proporción (%)	IC 95%	
					Min	Max
10 - 20	16	1	15	6.25 a	0.158	30.23
20.1 - 29	84	0	84	0 b	0.00	4.296
> 29.1	12	3	9	25 a	5.49	57.19
Total	112	4	108	10.41%		

Valores seguidos con letras iguales no difieren estadísticamente ($p > 0.05$)

Es importante considerar que en climas cálidos y tropicales, las bacterias patógenas y microorganismos causantes de la descomposición de las carnes, se desarrollan más rápidamente, por lo tanto, el control de la temperatura en los alimentos debe ser estricto (Kooper *et al.* 2009). La ciudad de Santa Cruz, es desafiada por su clima constantemente (temperatura elevada, exceso de humedad y oxígeno libre) que vulnera rápidamente la composición de los productos y sub productos alimenticios de uso humano, a esto debe sumarse la falta de conocimientos técnicos en materia de conservación y manipulación, por parte de los comerciantes de estos productos, el transporte inadecuado, infraestructura inapropiada y legislación incumplida, aspectos que en su conjunto, convierten a la ciudad en un escenario propicio, donde los alimentos que se manipulan pueden convertirse en verdaderos recintos de contaminación (Soto *et al.* 2009).

identificaron 3 mercados (10.71%) con puestos de venta que expandían carne de pollo en la cual se detectó *Salmonella* spp.

- La proporción general de muestras de carne de pollo, positivas a *Salmonella* spp., de 112 puestos de venta ubicados en 28 mercados la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, fue de 3.57%.
- En el presente estudio la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa para el diagnóstico de *Salmonella* spp. registró una sensibilidad del 100% y especificidad del 98%.
- Se registraron temperaturas que oscilaban en rangos de 10°C y mayores a 29.1°C al momento de obtener las muestras de carne de pollo, detectándose que las muestras positivas (3 de 4) están asociadas a temperaturas mayores a 29.1°C.

Conclusiones

- El presente trabajo de investigación estandarizó la sensibilidad y especificidad de la prueba Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).
- En el periodo de octubre a diciembre de 2013, en los distritos 4, 7 y 8, se

Referencias citadas

Alexandre M., Pozo C., Gonzalez V., Martinez M. 2000. Detección de *Salmonella* en muestras de productos avícolas de consumo humano en la Región Metropolitana. Red Med. Chile. 1075-1083.

- Bennett A., Greenwood D., Tennant J., Banks G., Betts R. 1998. Rapid and definitive detection of *Salmonella* in foods by PCR. *Lett appl. Microbiol.* 26: 437-441.
- Espinoza E., Revollo S., Espada, A. 2007. Identificación de *Salmonella* sp. mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa Anidado. *Visión Científica.* 1(2): 1-7.
- European Food Safety. 2010. European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses. Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2008. *EFSA Journal.* 8(1):1496-1906.
- FAO. 2010. Perspectivas Alimentarias. Análisis del Mercado Mundial. FAO. *En línea.* Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/011/ai466s/ai466s08.htm>
Consultado en agosto de 2014.
- FAO. 2013. Food Outlook, Biannual Report on Global Food Markets. *En línea.* Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/i3473e/i3473e.pdf>
Consultado en agosto de 2014.
- IBNORCA (Instituto Boliviano de Normalización y Calidad). 2008. Carnes de aves y derivados. Requisitos microbiológicos. NB 310013.
- INE. 2012. Instituto Nacional de Estadística. *En línea.* Disponible en: <http://www.ine.gob.bo>
Consultado en julio de 2014.
- Kooper G., Calderón G., Schneider S., Domínguez W., Gutiérrez G. 2009. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico en estudios de caso en Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras y Nicaragua. *En línea.* Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-i0480s.pdf>
Consultado en junio de 2014.
- Minor A. 1987. Designation of *Salmonella enterica* sp. *International Journal of Systematic Bacteriology.*, 37: 465-468.
- Quevedo F. 2002. Enfermedades emergentes y reemergentes transmitidas por alimentos. *Cien. Inv.* 5: 25-35.
- Sanchez-Plata M. 2013. Inocuidad de alimentos en la cadena avícola. *En línea.* Disponible en: <http://www.achipia.cl>
Consultado en mayo de 2015.
- Servicio Nacional de Salud Animal (SENASA). 2011. Prevalencia de *Salmonella* spp. en carnes frescas y subproductos de pollo. Costa Rica, septiembre a noviembre 2009. Dirección Vigilancia de la Salud Ministerio de Salud. *En línea.* Disponible en: <http://bvspanalimentos.org/local/File/BolMayoInf-TecnicoSalmonellaCarnesPollo2011.pdf>
Consultado en agosto de 2014.
- Soto V., Antelo G., Frias L. 2009. Rol del médico veterinario zootecnista en la acreditación y/o certificación de mercados saludables y productivos. Universidad Autónoma Gabriel René Moreno. Facultad de Veterinaria. Trabajo dirigido. pp. 297-299.
- Thrusfield M. 1990. Epidemiología veterinaria. Acribia. Zaragoza, España. 339 p.
- Velasquez M. 2005. Evaluación de la resistencia a los antibióticos de las cepas de *Salmonella* spp. aislada de la carne de pollo que se expende en los principales mercados municipales de la ciudad de Guatemala. Guatemala. Tesis de grado. 15:2.

Residuos de antibióticos en leche cruda expendida en los mercados de Santa Cruz de la Sierra (2017)

Méndez Gerardo; Guzmán Gisel; Espindola Roger

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Autónoma Gabriel René Moreno

E-mail de contacto: lalomendezprado@hotmail.com

Resumen. El presente trabajo de investigación, se realizó en los mercados de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, durante los meses de abril a julio del año 2017. Se analizaron 48 muestras tomadas de 28 mercados, obteniendo dos muestras de leche cruda de vaca por mercado. Dichas muestras se analizaron en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Autónoma Gabriel René Moreno. El objetivo fue determinar la presencia de residuos de antibióticos, en leches crudas expendidas en los mercados del municipio cruceño, observando además la calidad higiénica de la leche, su densidad y la prevalencia de brucelosis mediante la prueba del anillo en leche. Del total de muestras analizadas, utilizando el método de difusión estándar en Agar, el 54.2% revela la presencia de residuos antibióticos en la leche expendida en los mercados. Para conocer la calidad de leche, se empleó la prueba de TRAM, obteniendo un 52.0% como leche de calidad higiénica mala. Asimismo, con la prueba de anillo de leche, se pudo establecer que un 17.2% de las muestras de leche son positivas a brucelosis. Finalmente, para determinar la adulteración de la leche cruda de vaca, se utilizó el lactodensímetro, obteniendo como resultado que el 47.9% presenta adulteración con agua y sólidos.

Palabras clave: Inocuidad alimenticia; Manejo de lácteos; Brucelosis; Mastitis

Introducción

La leche es un producto nutricional fundamental para la vida de todos los seres humanos y animales. En los últimos años se ha incrementado su consumo y de sus derivados, lo que ha dado lugar al desarrollo de la industria láctea, la cual ha tenido como efecto la creación de muchos empleos relacionados con el cuidado de los animales, la extracción del producto, su procesamiento, empaquetado y distribución en los mercados.

Siendo la leche de vaca un alimento de toda la familia, se hace imprescindible incluir en los análisis rutinarios, la detección de residuos de antibióticos que puedan originar problemas de salud en los consumidores.

En consecuencia, la salud de la población está en riesgo y la investigación es muy importante porque a partir de los datos evaluados, se podrá realizar actividades tendientes a mejorar la manipulación de la leche cruda de vaca y disminuir los riesgos para la salud humana.

Como antecedentes, se puede señalar que en las explotaciones ganaderas de leche, constantemente se utilizan productos destinados a mantener en buen estado de salud al hato, especialmente las vacas en producción, que se convierten en las más sensibles a problemas de mastitis, ya que si los animales enferman, conlleva a pérdidas económicas, por tales razones se hace uso de distintos antibióticos, que al aplicarlos por cualquier vía, se debe cumplir el período de retiro correspon-

diente a cada producto. En algunos casos, el uso indiscriminado de antibióticos en el hato lechero, se ha constituido en un problema que afecta directamente la seguridad alimentaria del país.

Además, se tiene grandes plantas industrializadoras de leche con control riguroso, pero también existen granjas que no tienen control ni fiscalización, por tanto, corresponde a la Universidad y especialmente a la Facultad de Ciencias Veterinarias, a través de sus docentes, estudiantes de Veterinaria y Zootecnia, determinar si la leche que se vende en los diferentes mercados de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra, tienen componentes extraños, especialmente residuos de antibióticos, porque los resultados obtenidos son de mucha importancia para la salud de la población en general y para las autoridades en particular, quienes deben implementar medidas de control en los centros de comercialización y coordinar la prevención con las instituciones que representan y apoyan al sector lechero.

Materiales y métodos

El presente estudio estuvo localizado en el municipio de Santa Cruz de la Sierra, habiendo tomado muestras de la leche de vaca comercializada en los principales mercados de la ciudad.

La metodología de muestreo, conservación y transporte de las muestras se basaron, en lo establecido por IBNORCA (2013).

Se trabajó con 28 mercados, de los cuales se tomaran dos muestras por mercado. La muestra se calculó tomando en cuenta los cuatro cuadrantes del municipio cruceño.

Método de laboratorio

Se aplicaron las siguientes pruebas:

- Detección de antibióticos en leche.
- Tiempo de reducción con azul de metileno (TRAM).
- Prueba de lactodensímetro.
- Prueba de anillo en leche.

Análisis estadístico

Se sometieron los resultados a la prueba de comparación de proporciones al nivel de significancia del 95%.

Resultados y discusión

Factores que influyen en la presencia de los residuos de antibióticos en la leche

Numerosos factores influyen en la concentración de residuos en la leche, incluyendo las características individuales y la salud del animal, la cantidad y tipo de antibiótico aplicado, la cantidad de producción de leche, el método de aplicación antibiótica, entre otros.

Los antibióticos aplicados parenteralmente, son excretados mucho más rápidamente por la leche, mientras que con la aplicación intramamaria, los residuos son hallados por un período más largo y en concentraciones mucho más altas (Feczić *et al.* 2014).

La mayor cantidad de muestras analizadas para el estudio fueron recolectadas de los cuadrantes 4 y 3, también fueron tomados en menor proporción los cuadrantes 1 y 2 (Cuadro 1).

Cuadro 1. Número de muestras de leche según el cuadrante de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra (2017)

Cuadrante	Nro. de muestras	(%)
1	11	22.9
2	10	20.8
3	13	27.1
4	14	29.2
Total	48	100.0

Del total de muestras analizadas, en 54.2% se revela la presencia de residuos antibióticos en la leche cruda de vaca expendida en los mercados del municipio Cruceño (Cuadro 2).

Cuadro 2. Frecuencia de residuos de antibióticos en leche de vaca expendida en los mercados de Santa Cruz de la Sierra (2017)

Residuos antibióticos	Nro. de muestras	(%)
Positivo	26	54.2
Negativo	22	45.8
Total	48	100.0

($p > 0.05$)

El Cuadro 3 muestra que el 52% de las muestras recogidas corresponde a leche clasificada como *mala*, ya que posea un tiempo de decoloración de 30 minutos. El 39.6% a *buena* con un tiempo de decoloración de 2 a 4 horas; el 4.2% a *pésima* con un tiempo de decoloración menor a 30 minutos, y el 4.2% a *muy buena*, con un tiempo de decoloración mayor a 5 horas. Estas tendencias indican que no existe un control higiénico, ya que el mayor porcentaje de muestras de leche fueron clasificadas como *mala*.

Cuadro 3. Calidad higiénica de la leche mediante la prueba de TRAM en los mercados de Santa Cruz de la Sierra (2017)

Clasificación	Nro. de muestras	(%)
Pésima	2	4.2
Mala	25	52.0
Buena	19	39.6
Muy buena	2	4.2
Total	48	100.0

($p < 0.01$)

El Cuadro 4 presenta la calidad sanitaria de la leche con respecto a una zoonosis de gran importancia como es la brucelosis, utilizando la prueba de anillo en leche. Estos valores revelan el estado sanitario de los hatos en producción de leche en el municipio de Santa Cruz de la Sierra, esto significa que existe el riesgo de contraer enfermedades en la población, al consumir la leche que se vende en los mercados.

Cuadro 4. Brucelosis bovina mediante la prueba de anillo en leche en los mercados de la ciudad de Santa Cruz de la Sierra (2017)

Resultados	Nro. de muestras	(%)
Positivas	9	18.7
Negativas	39	81.3
Total	48	100.0

($p < 0.01$)

En el Cuadro 5 se muestran los resultados sobre la adulteración de la leche. De acuerdo con la prueba de lactodensímetro, se demostró que un 47.9% presenta adulteración; 12.5% con residuos sólidos (harina, almidón, otros) y un 35.4% con agua.

La adulteración se la realiza, con el propósito de aumentar su volumen y sacar mayor ganancia en la venta de leche cruda de vaca.

Cuadro 5. Detección de leche adulterada mediante la Prueba de Lactodensímetro en los mercados de Santa Cruz de la Sierra (2017)

Resultados	Nro. de muestras	(%)
Normal	25	52.1
Adulterada con sólidos	6	12.5
Adulterada con agua	22	35.4
Total	48	100.0

Respecto de los vendedores de leche cruda en los mercados, el 50% no está capacitado y manipulan algunos con guantes, otros con nylon, manteniendo la leche en bidones grandes y algunos en refrigerador.

Por otra parte, existe muy poco control del municipio en los mercados alejados, , la leche la compran en las lecherías periféricas de la ciudad a un precio de 3.5 Bs a 4.5 Bs y la venden entre 5 a 6 Bs.

Conclusiones

- El presente trabajo encontró que el 54.2% de las leches crudas que se expenden en los mercados de Santa Cruz de la Sierra, tienen residuos de antibióticos.
- El análisis para determinar la calidad higiénica de la leche cruda que se expenden en los mercados de Santa Cruz de la Sierra, estableció que el 56.2% son de pésima y mala calidad higiénica,

lo que representa un grave peligro para la salud pública.

- Analizando los resultados de la encuesta, se puede afirmar que de los vendedores de leche cruda en los mercados, el 50% no están capacitados y manipulan algunos con guantes, otros, con bolsa plástica, manteniendo la leche en bidones grandes y algunos en refrigerador.
- Una de las causas potenciales de la existencia de altas cantidades de residuos de antibióticos en leche, es el uso indiscriminado de fármacos en el medio y el irrespeto a los tiempos de retiro de los mismos.
- Es importante señalar que la leche, además de ser un producto básico en la canasta familiar, en Bolivia es fuente de ingresos de los ganaderos del país. Por lo tanto, es necesario implementar medidas como la educación a los ganaderos y estrictos programas de vigilancia y control, a fin de disminuir la presencia de antibióticos en la leche cruda de vacas, que se vende en los mercados, lo cual pone en riesgo la salud pública.

Referencias citadas

Fejzić N., Begagić M., Šerić-Haračić S., Smajlović M. 2014. Beta lactam antibiotics residues in cow's milk: comparison of efficacy of three screening test used in Bosnia and Herzegovina. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences* 14(3): 155-159.

IBNORCA 2013. Instituto Boliviano de Normalización y Calidad. Tercera revisión. NB 33013.