

# **CURSO ANUAL DEL INSTITUTO DE PROMOCIÓN DE LA CARNE VACUNA ARGENTINA, IPCVA**

## **“Envases en la Industria de la Carne Vacuna: Fundamentos y Aplicaciones”**

### **Microbiología de carnes**

**Marcelo Masana**

**11 de Noviembre de 2009**

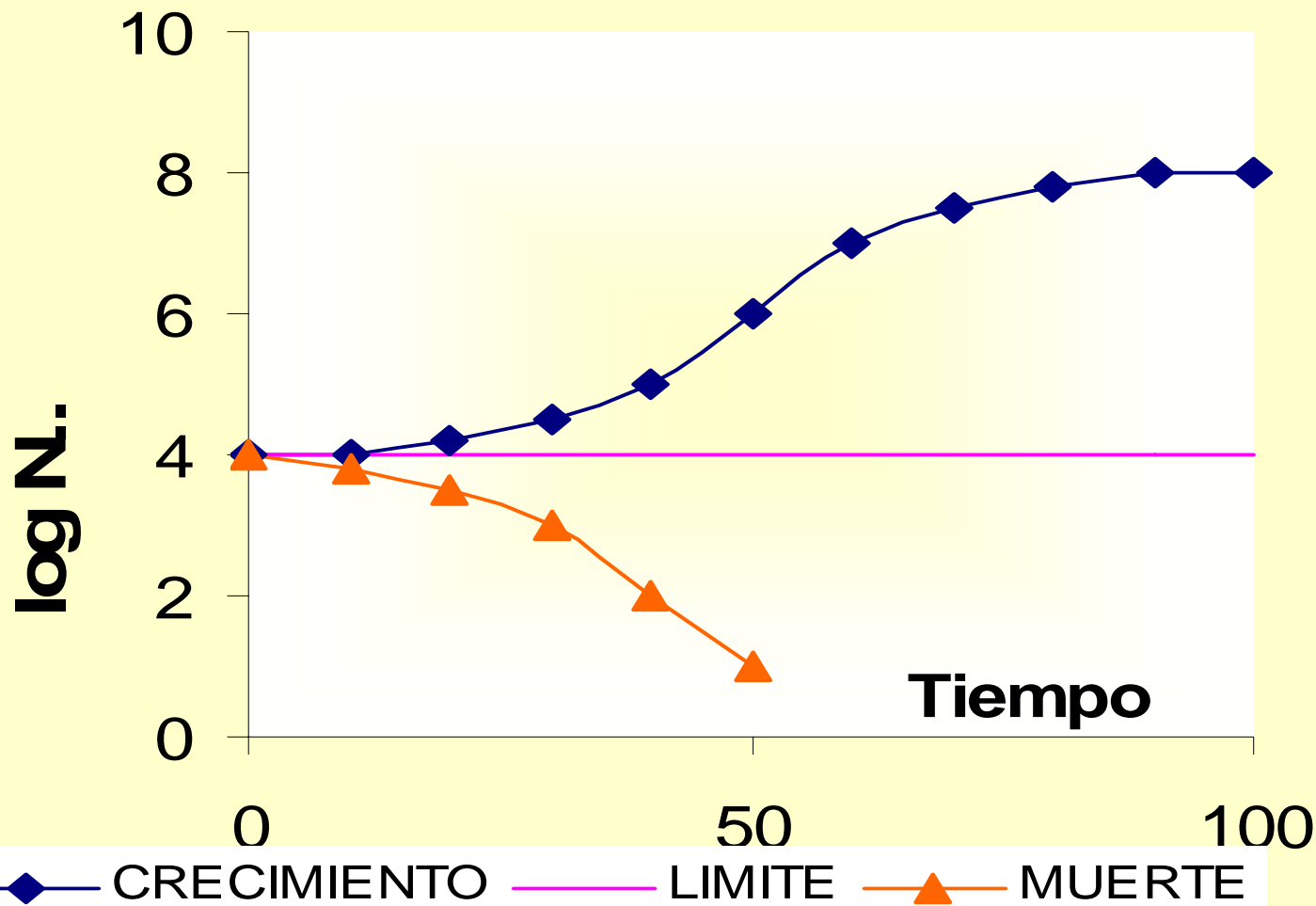


## Temario

- **La Refrigeración y la microbiología de carnes**
- ***Escherichia coli* productor de toxina Shiga**



# RESPUESTA MICROBIANA



MAGNITUD DEL FACTOR (pH, aw...)

## **FACTORES QUE AFECTAN EL CRECIMIENTO**

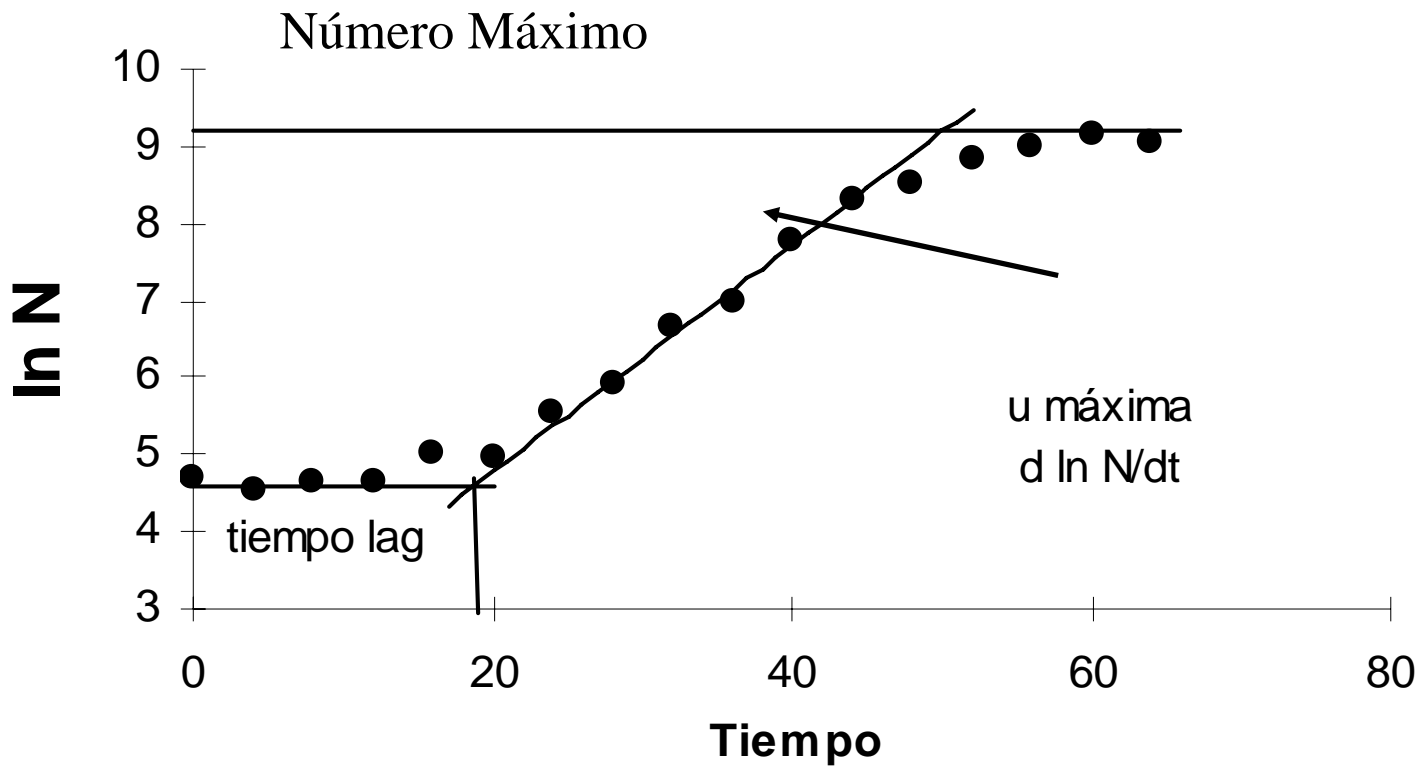
- ❖ **Factores intrínsecos: propiedades físicas, composición química, propiedades biológicas del alimento**
- ❖ **Factores extrínsecos: propios factores del ambiente donde se conserva el alimento**
- ❖ **Factores de procesamiento: tratamiento físicos o químicos en el alimento**
- ❖ **Factores implícitos: relaciones de dependencia entre microorganismos**

## MICROORGANISMO

- **Número de células inoculadas**
- **Estado de viabilidad del inóculo - Estado fisiológico.**
- **Fase de crecimiento**
- **Presencia de formas resistentes o subpoblaciones**
- **Número de cepas distintas empleadas.**  
**Mezclas de cepas**
- **Procedencia de las cepas. Wild or culture.**

# CURVA DE CRECIMIENTO

## Parámetros de crecimiento




# BAJAS TEMPERATURAS Y MEMBRANAS CELULARES

**Efecto: Reducción de la fluidez de la membrana**

- ❖ Enzimas de membrana
- ❖ Permeasas (transporte)
- ❖ Citocromos (metabolismo)

## BAJAS TEMPERATURAS Y MEMBRANAS CELULARES

- Cambios en la composición lipídica de la membrana
- Favorece lípidos de menor punto de fusión / transición cristalino-gel

- 
- ❖ Acortamiento de cadenas. Menor Peso Molecular
  - ❖ Insaturación TRANS (*Salmonella, Bacillus*)
  - ❖ Ramificación  $\text{CH}_3^*$  (*Listeria, Bacillus*)
  - ❖ Insaturación CIS (*Salmonella, Bacillus*)

**Mayor Fluidéz**



## TEMPERATURAS CARDINALES

Grupo	Temperatura		
	Mínima	Óptima	Máxima
Termófilos	40 - 45	55 - 75	60 - 90
Mesófilos	5 - 15	30 - 40	40 - 47
Psicrófilos	-5 +5	12 - 15	15 - 20
Psicrótrofos	-5 +5	25 - 30	30 - 35

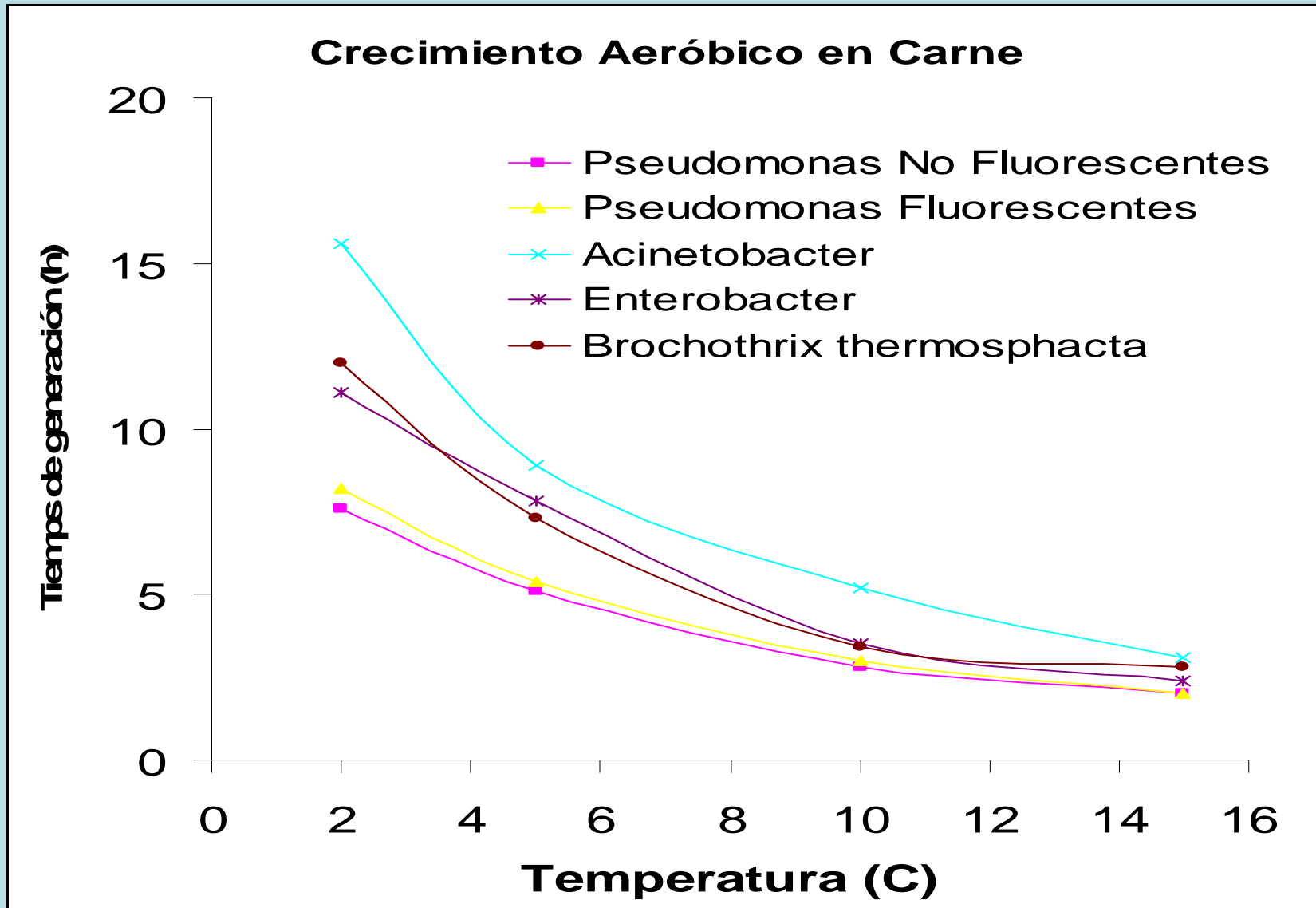
## Patógenos y Bajas temperaturas

<b>Crecimiento a 5C</b>	<b>Crecimiento &gt;5C</b>	<b>Supervivencia 5C</b>
<b><i>Clostridium botulinum E</i></b>	<b><i>Vibrio parahaemolyticus</i></b>	<b><i>Campylobacter jejuni</i></b>
<b><i>Listeria monocytogenes</i></b>	<b><i>Bacillus cereus</i></b>	<b><i>Campylobacter coli</i></b>
<b><i>Yersinia enterocolítica</i></b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b><i>Brucella</i></b>
<b><i>Aeromonas hydrophila</i></b>	<b><i>Salmonella spp.</i></b>	
	<b><i>Escherichia coli</i> O157:H7</b>	

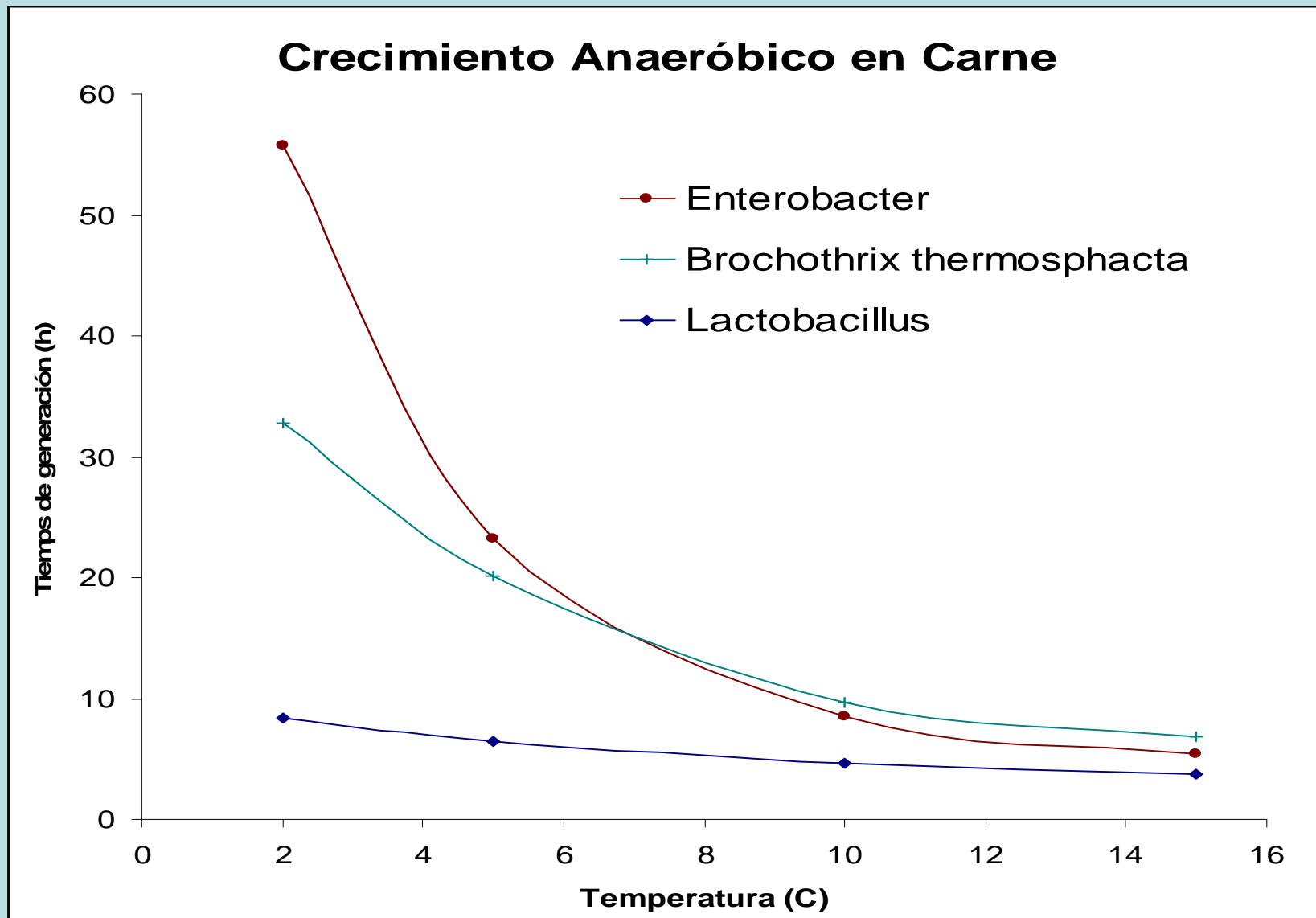
# REFRIGERACIÓN: PATÓGENOS y ALTERADORES

Bacteria	Límite crecimiento (°C)	Comentario
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0	Alterador no patógeno
<i>Micrococcus spp.</i>	1	Alterador no patógeno
<i>Listeria monocytogenes</i>	1	Crece a temperatura refrigeración
<i>Clostridium botulinum</i>	3	Algunos tipos no proteolíticos
<i>Salmonella spp.</i>	5	Crecimiento lento en refrigeración
Bacterias ácido lácticas	5	Pueden producir alteración
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	Algunas cepas en alimentos procesados
<i>Bacillus cereus</i>	10	Cepas psicrótrofas en leche
<i>Clostridium perfringens</i>	13	Pueden crecer lentamente en góndolas

# TEMPERATURA Y VELOCIDAD DE CRECIMIENTO



# TEMPERATURA Y VELOCIDAD DE CRECIMIENTO



Adaptado de Gill y Newton 1977; Newton y Gill, 1978.

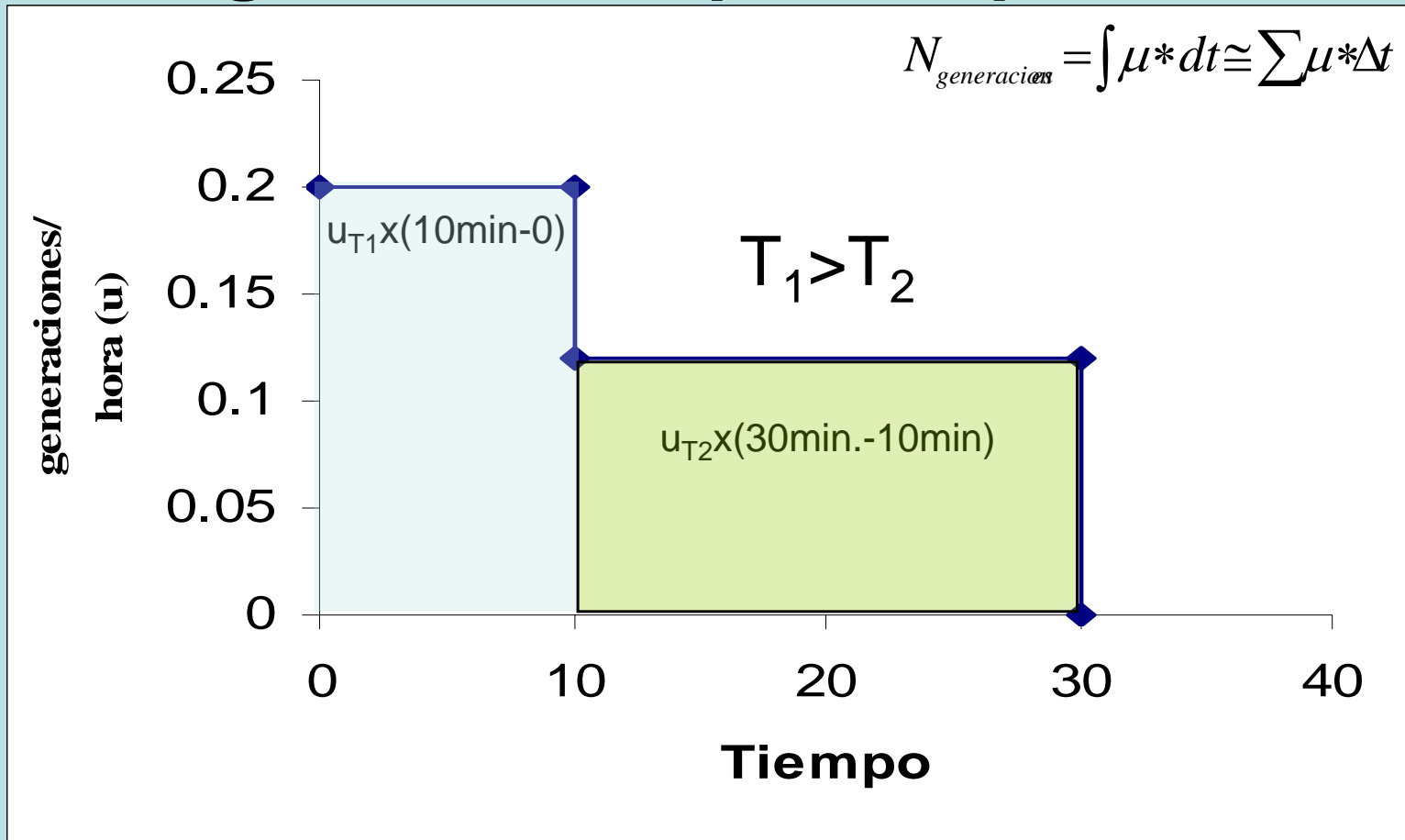
ITA INTA, 2009

# HIPÓTESIS DE TOLERANCIA-TIEMPO-TEMPERATURA (TTT)

- La velocidad de la pérdida de la calidad es proporcional a la temperatura de almacenaje
- Todo efecto por temperatura es acumulativo y no depende de cuando sucede durante la vida útil del producto

adaptado de McMeekin et al, 1993

# Integración Tiempo-Temperatura



- Modelo para la velocidad de crecimiento con temperatura u otros parámetros ambientales.
- Ecuación integrada en un software electrónico

# ECUACIÓN DE ARRHENIUS

$$k = A e^{-\frac{E_a}{RT}}$$

**Hipótesis: Una reacción enzimática gobierna la velocidad de crecimiento**

$E_a$  = constante (energía de activación de la reacción enzimática).

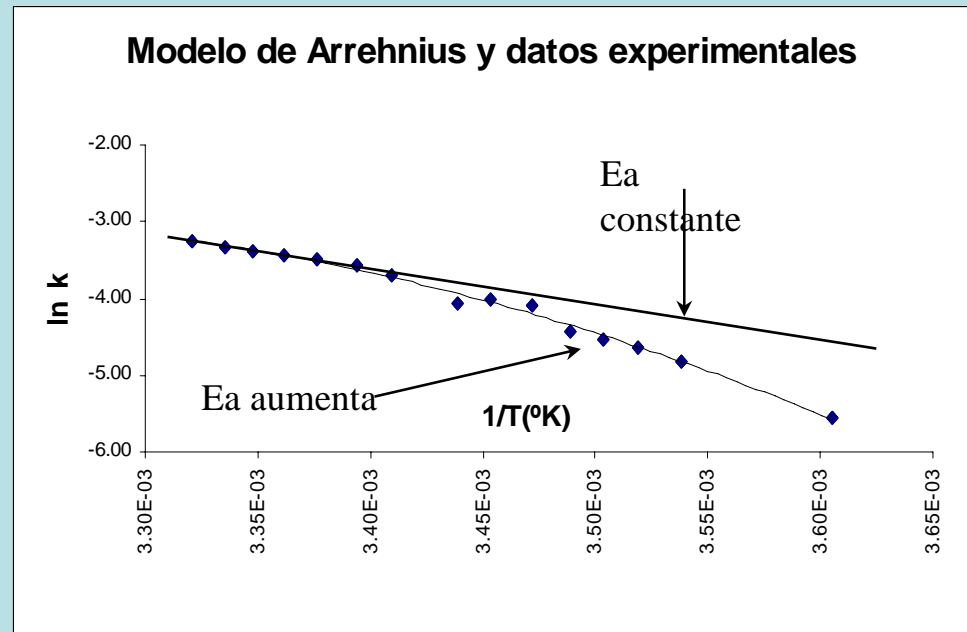
T = temperatura en Kelvin

R = constante universal de los gases

A = constante (factor de colisión)

$$\ln k = \ln A_0 - \frac{E_a}{RT}$$

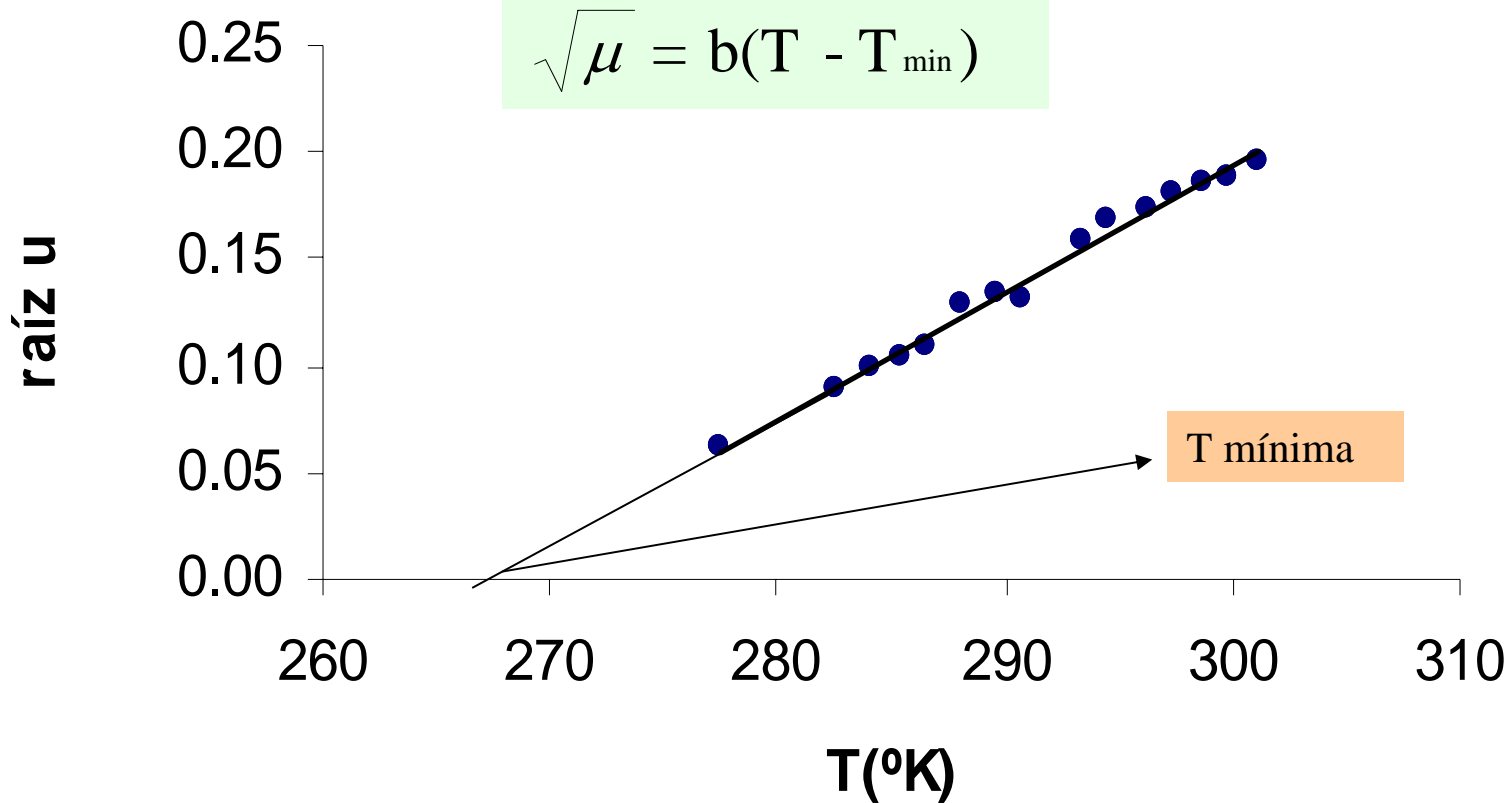
$$E_{aparente} = \frac{2RT^2}{(T - T_{min})}$$





# MODELOS TIPO RAÍZ CUADRADA

Raíz cuadrada de la velocidad específica vs T



## T MÍNIMAS PARA DISTINTOS GRUPOS

Grupo	T mínima
Psicrófilos	251 °K / -22°C
Psicrótrofos	263 °K / -10°C
Mesófilos	278 °K / 5°C
Termófilos	308 °K / 35°C

## INTEGRADORES TIEMPO -TEMPERATURA

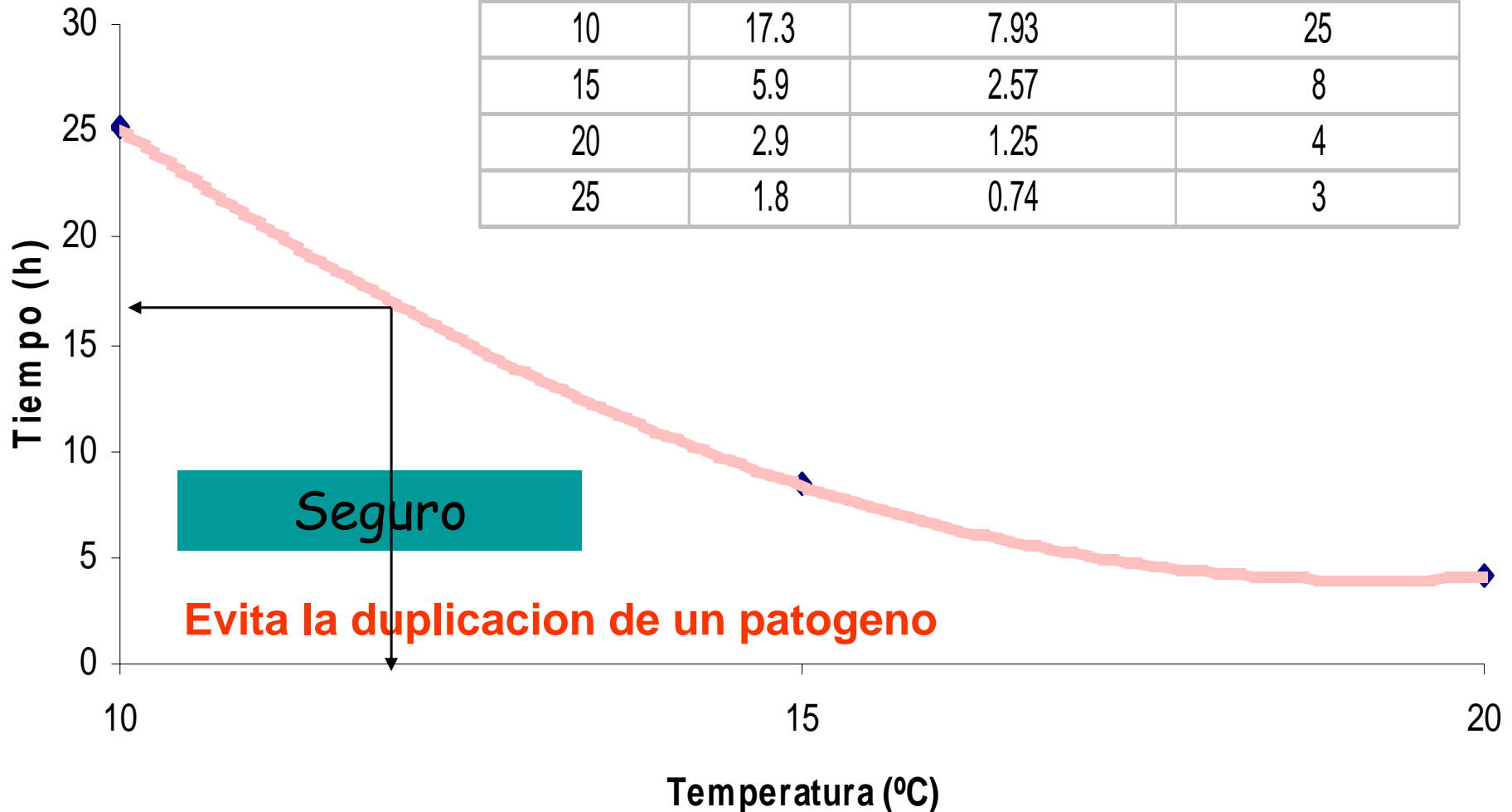
- **Fundamentos:** simular la cinética del deterioro mediante una reacción enzimática ó químico-física modulada por la temperatura de forma similar / similar  $E_a$
- **Historia Parcial:** Detectan el abuso de temperatura.
- **Historia Completa:** Registran el efecto de todo el almacenamiento
- ***Desventaja las bacterias no siguen una cinética química tipo Arrhenius***

## INTEGRADORES TIEMPO -TEMPERATURA

Temperatura °C	Vel. Rel. Deterioro	Vida útil (días)	Tiempo Viraje Indicador 100% (días)
0	1	17.1	14
4	2.1	8	8
8	3.68	4.6	3.75
12	5.67	3	2.5
16	8.09	2	1.75

# Tiempos equivalentes para una duplicación

Temperatura	Lag (h)	Tpo de generación (h)	Tpo. Duplicación (h)
10	17.3	7.93	25
15	5.9	2.57	8
20	2.9	1.25	4
25	1.8	0.74	3



## Microbiología Predictiva, BPM y Calidad en la industria de la carne

- Procesos de enfriado de vísceras. Gill (1984)  
***E. coli*** anaerobiosis
- Buenas Prácticas en frigoríficos. Smith (1985).  
coliformes en aerobiosis
- ***Salmonella*** en carne picada. Mackey and Kerridge (1988)
- Higiene del descongelado de carne. Lowry et al. (1989)
- ***E. coli*** en aerobiosis Evaluación higiénica del enfriado convencional y por sprays de canales . Gill (1991)

## Microbiología Predictiva, BPM y Calidad en la industria de la carne

- Evaluación higiénica de procesos de distribución de carne envasada al vacío. **Gill (1992) - Enterobacterias psicrótrofas**
- Predicción del crecimiento de ***E. coli*** en carne de cerdo en condiciones de “góndola de exhibición” **Gill et al. (1998)**

## **VIDA UTIL DE CARNE ENVASADA AL VACIO (Gill, 1992)**

\* Flora alteradora:

**Enterobacterias psicrótofas**

\* Modelo de crecimiento para EP (Gill, 1992)

-3 a 10 °C

10 a 30 °C

30 a 35 °C



## VIDA UTIL DE CARNE ENVASADA AL VACIO (Gill, 1992)

- Temperatura de referencia 0°C
- Modelo para **factor reducción del lag (FRL)** a temperatura distinta de 0°C
- $\log \text{FRL} = a_1 * T + b_1$
- Modelo de crecimiento anaeróbico
- $\mu \text{ (g/h)} = (a_2 * T + b_2)^2$

# VIDA UTIL DE CARNE ENVASADA AL VACIO

(Gill, 1992)

1. Perfil de temperatura por corte
2. Calculo de la resolución del tiempo lag
3. Generaciones por hora después del lag
4. Tiempo para alcanzar número de riesgo

# Cortes de carne de alto pH envasada al vacío

## Relación teórica del crecimiento a 5 y 1°C

	TEMPERATURA	
	5°C	1°C
Lag (h)	1.81	6.01
Velocidad (g/h)	0.087	0.036
<b>Tiempo para log N (1°C /5°C)</b>	<b>2.55</b>	

## Relación Observada de la vida útil a 5 y 1°C

TEMPERATURA	VIDA UTIL
1° C	65
5° C	25
<b>Cociente (1°C/5°C)</b>	<b>2.55</b>

## **CONTROL DE LA EFICACIA HIGIENICA - Gill et al. 1988**

- **MODELOS DE DESARROLLO PARA Microorganismos DE SIGNIFICACION HIGIENICA**
  - \*Indicadoras - \*E. coli
  
- **HISTORIAS TERMICAS REPRESENTATIVAS**
  - \*Número representativo de unidades al azar
  - \*Características microbiológicas y de procesamiento térmicas del punto
  - \* Mediciones en el punto de más baja temperatura

# **CONTROL DE LA EFICACIA HIGIENICA - Gill et al. 1988**

## ● **EFICACIA HIGIENICA**

- Estimación de la número de generaciones –
- Comparación entre lo observado y lo deseable (GMP) criterios compatibles con gmp
- 80% de las unidades < de 10 generaciones de *E.coli*
- Promedio de las unidades < de 7 generaciones
- Ninguna unidad con > de 14 generaciones

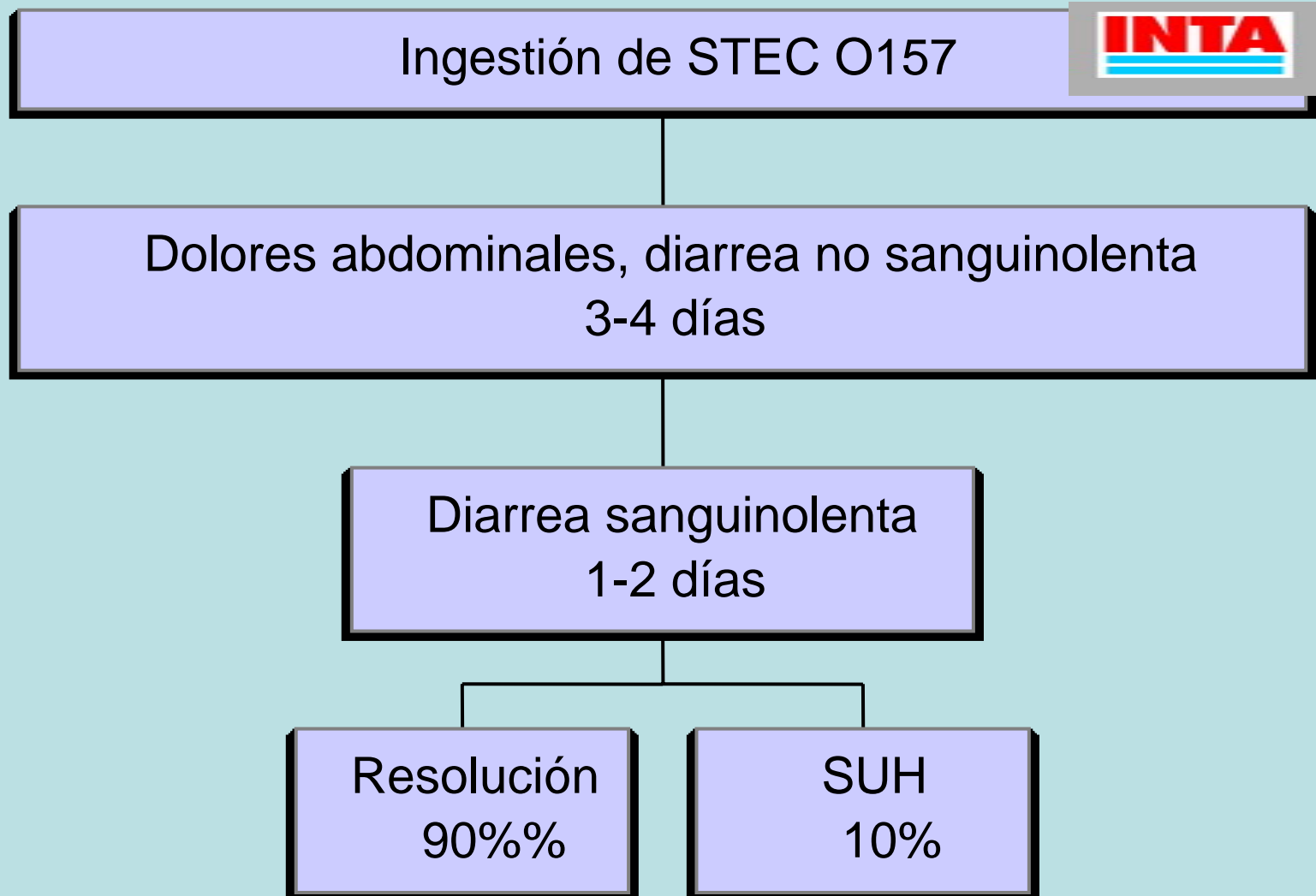
adaptado de Gill et al. 1988

# ***Escherichia coli* productor de toxina Shiga**



***Estudios para la Evaluación del Riesgo de Escherichia coli  
Productor de Toxina Shiga -STEC, en la Cadena de la  
Carne Bovina  
CONVENIO INTA-IPCVA***

# Evolución de la infección por STEC O157

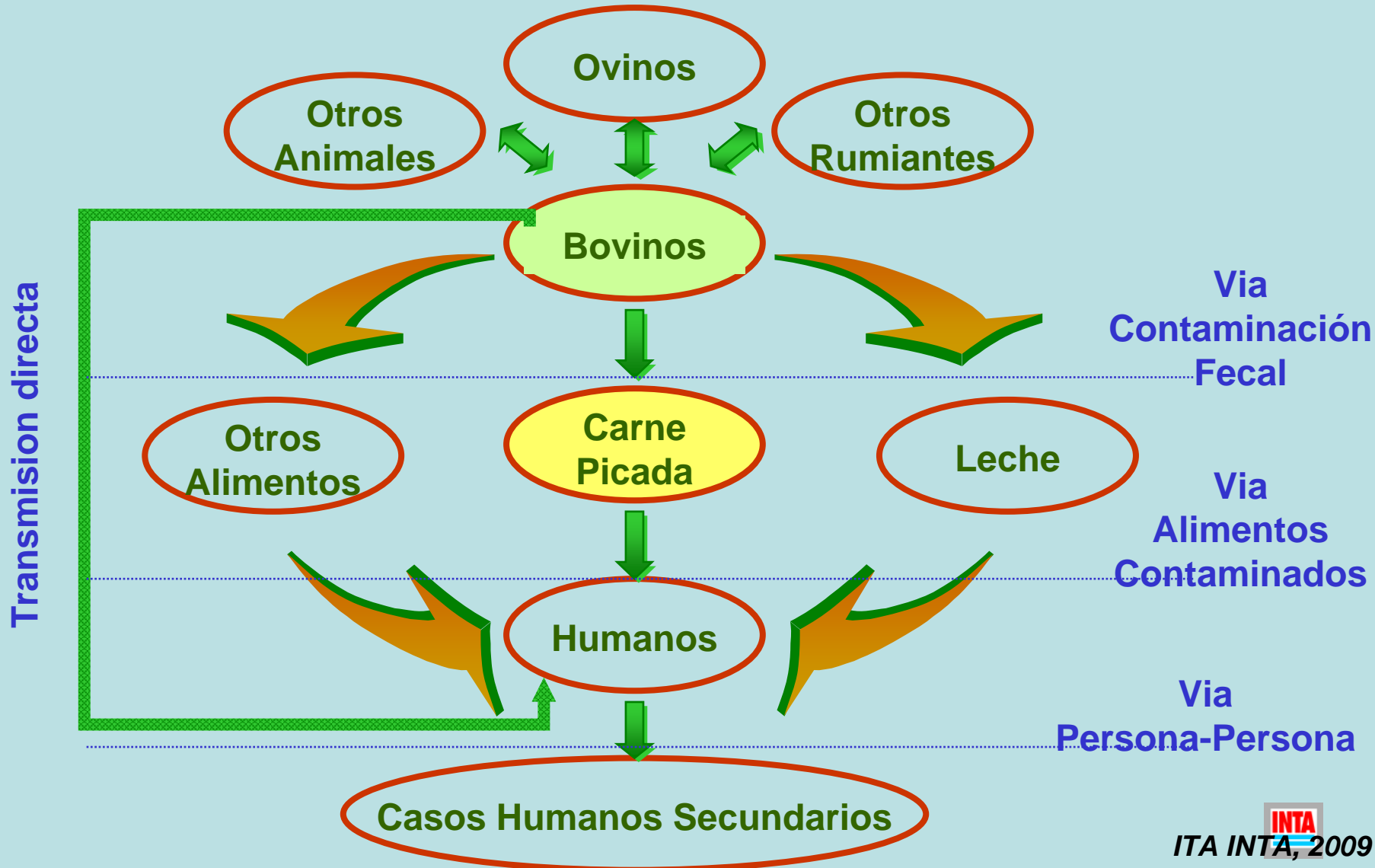


## Importancia y Control de STEC O157

- 1982-3. Enfermedad: Primeros casos reportados (USA) (1977, primer aislamiento reportado en bovinos).
- 1994. FSIS declara a *E. coli* O157:H7 adulterante en alimentos.
- 1997. FSIS. Aumento de tamaño de muestra (25 a 325 g).
- 2001. FSIS produce documento de Evaluación de Riesgos.
- 2002. USDA. Revisión de planes HACCP.
- 2004. Argentina. Modificación del CAA para *E. coli* O157:H7 en el muestreo de carnes.
- 2005. Introducción del BAX como screening
- 2008. FSIS. Modificación de metodología de detección (MLG 5.04).



# RESERVORIOS Y MODO DE TRANSMISIÓN: *E. coli* O157:H7



## Relación entre serotipos STEC no-O157 aislados de Humanos y Bovinos

---

- Más de 200 serotipos non-O157:H7 STEC aislados de humanos.
  - Más de 100 serotipos STEC aislados de bovinos no se aislaron de humanos.
  - 34 de un total de 57 serotipos asociados a CH o SUH fueron también aislados de bovinos .
  - Muchas STEC de bovinos no son probablemente patógenos humanos
-

## Importancia de los Factores de virulencia

---

- El grupo STEC está diseminado mundialmente y presente en una amplia variedad de animales incluyendo porcinos y aves.
- Alta correlación entre la infección humana y la portación de genes *stx*, *eae*, and EHEC-*hlyA*
- Muchas STEC aisladas de animales y alimentos no poseen genes *eae* and/or EHEC-*hlyA* y pueden en principio considerarse no virulentas a menos que se demuestre lo contrario

- ❖ *Genes stx, eae, ehxA*
- ❖ *Brotos frecuencia y gravedad*
- ❖ *Diseminación*

STEC

STEC O26 , O103, O111, O121, O145

**PELIGROSIDAD**

STEC O157:H7



# E. coli O157:H7- Carne Molida - USDA-FSIS

AÑO	% Positivos	Positivas	Totales
1994	0,00	0	891
1995	0,06	3	5407
1996	0,07	4	5703
1997	0,07	4	6065
1998	0,17	14	8080
1999	0,41	32	7786
2000	0,86	55	6374
2001	0,84	59	7009
2002	0,78	48	5430
2003	0,30	20	6580
2004	0,18	14	8010
2005	0,17	19	10976
2006	0,17	20	11779
2007	0,24	29	12292
2008	Modificación medio de enriquecimiento		

**Octubre 97 se incrementa el tamaño de muestra de 25 a 325 g en los muestreos**

**Setiembre 99 se incorpora la IMS**

**02 Re-evaluación de HACCP y planes de control**

## Conclusión

---

- En USA el control de *E. coli* O157:H7 en los productos finales tuvo poco efecto en la reducción de la incidencia de la enfermedad humana.
  - Fue efectiva la Re-evaluación de planes de seguridad considerando a *E. coli* O157:H7 como peligro significativo
-

# HACCP Y *E. coli* O157:H7

**Baja incidencia**  
**Alta peligrosidad**

Paso letal - HACCP



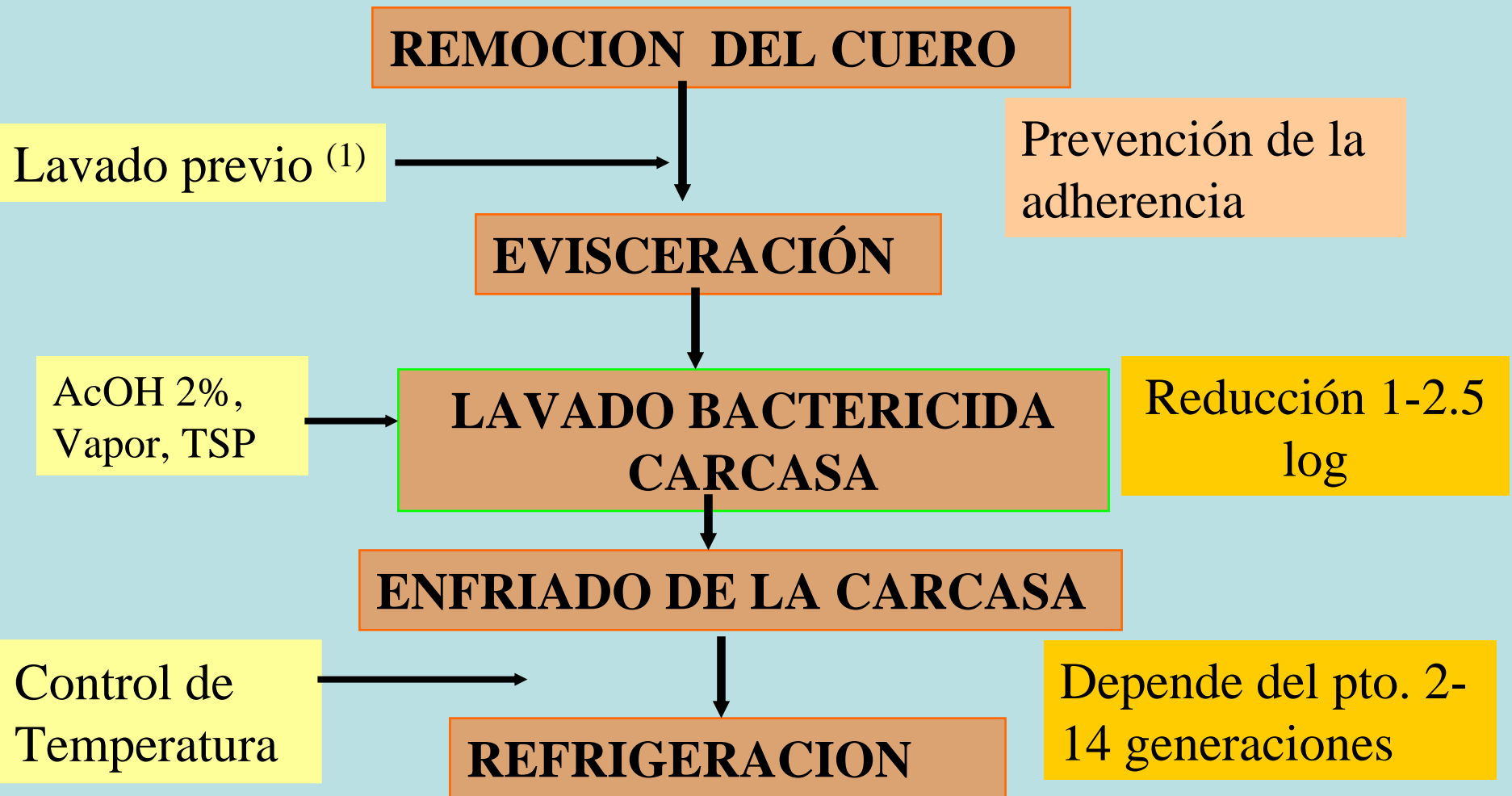
**Productos cocidos**

Criterio: 4 D / T interna = 68.3°C <sup>(1)</sup>  
66.1°C \* 41 s / 69.4° \* 10s / USDA

**Productos fermentados**  
Criterio 5D

Fuente: (1) Juneja et al., 1997

# PCC en la faena



(1) Dickson (1995)





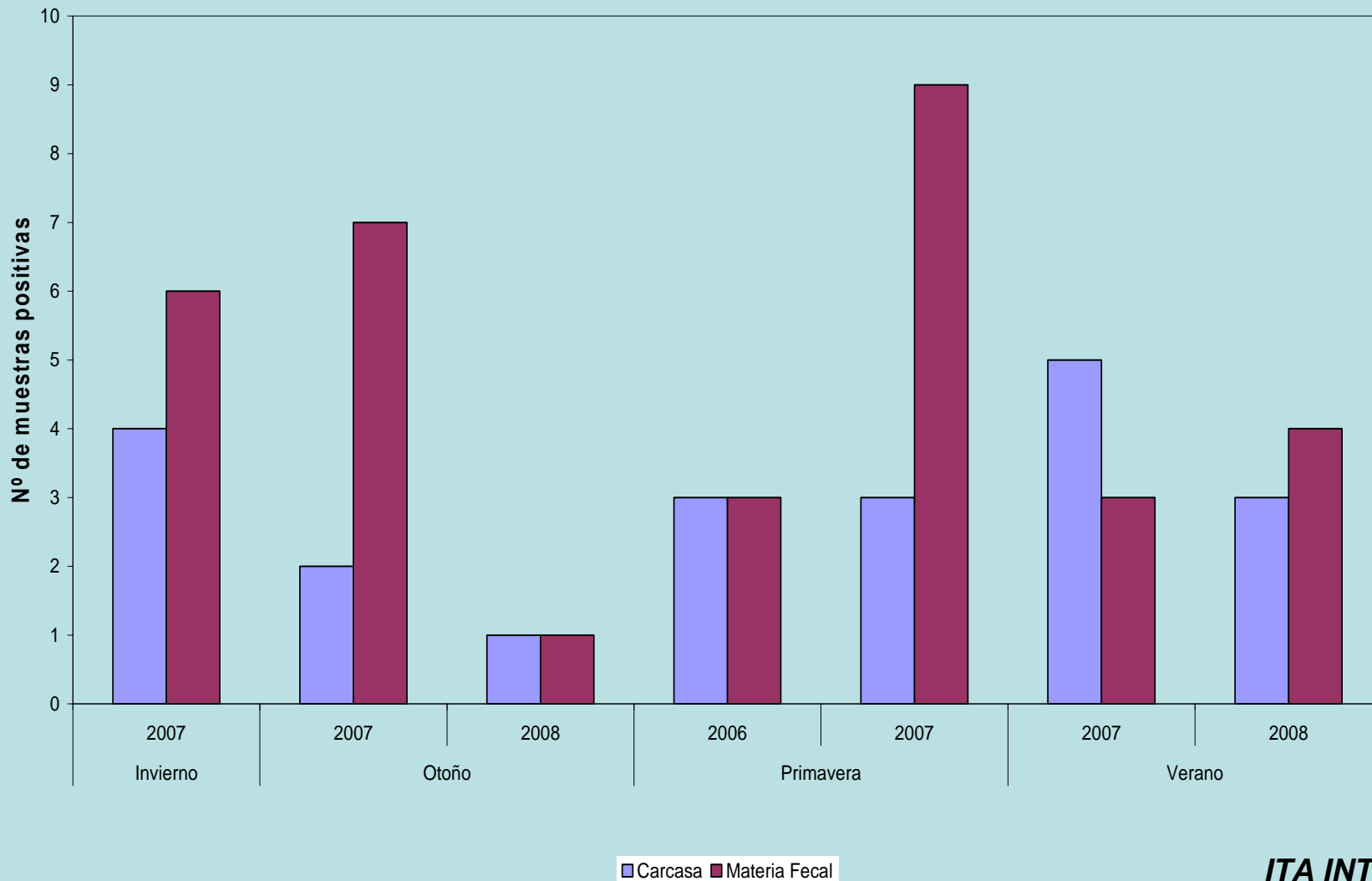
## CONVENIO INTA-IPCVA

### OBJETIVO

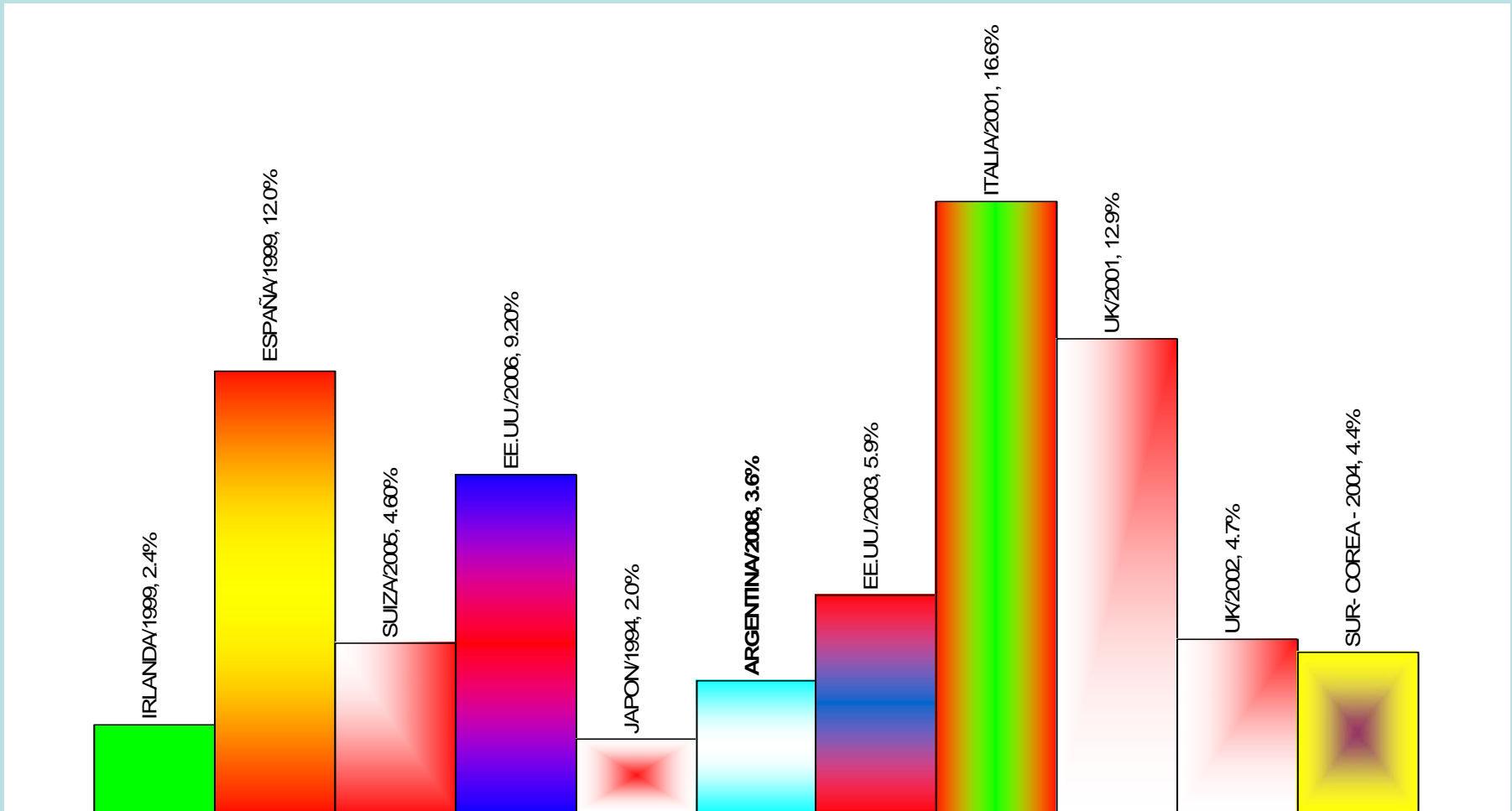
Determinar la incidencia de *E. coli* O157:H7 en:

- Contenido fecal del ganado bovino
- Carcasas bovinas

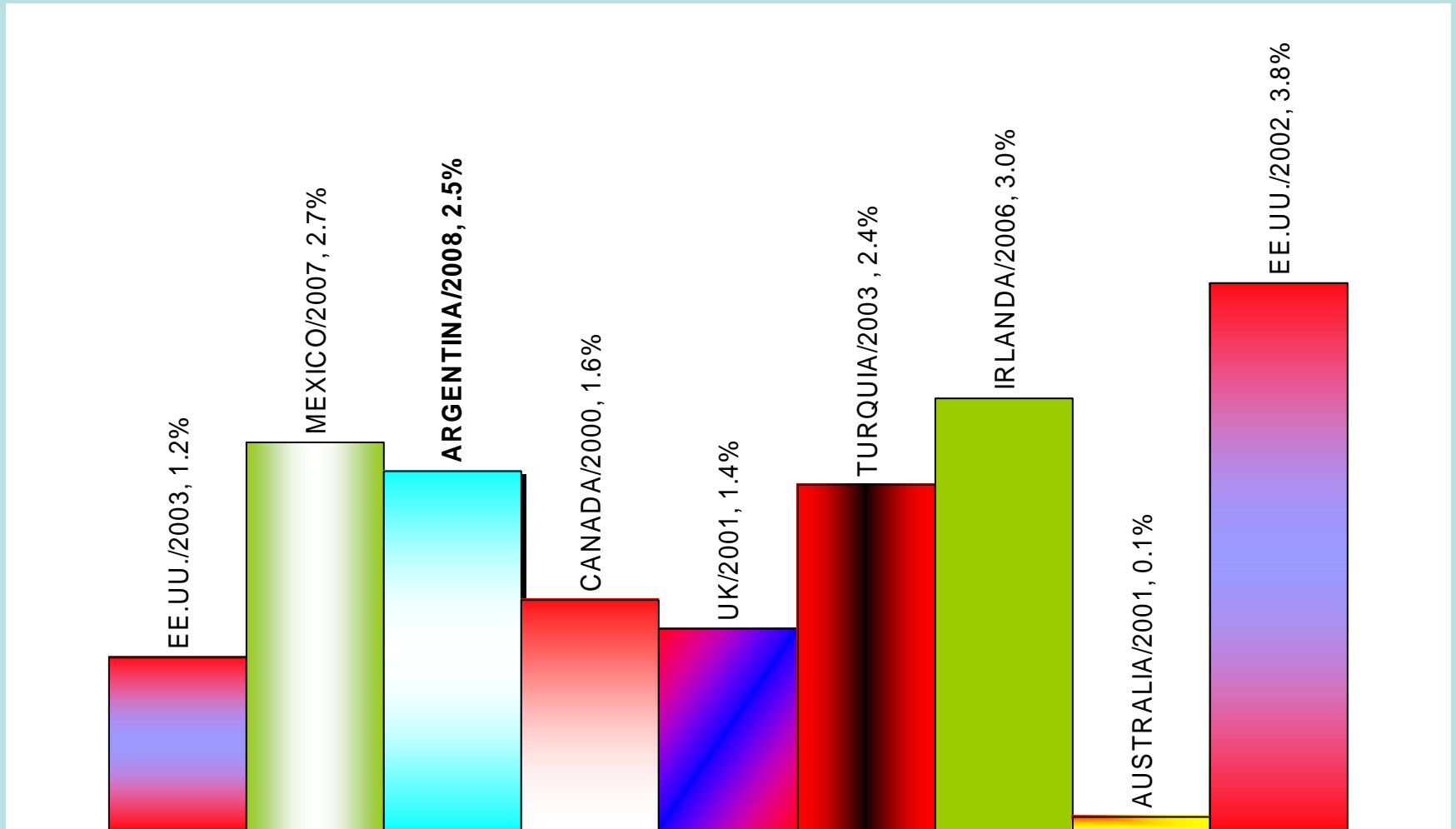
# Prevalencia estacional de STEC O157 en materia fecal y carcasas



# Prevalencia de STEC O157 en materia fecal de bovinos.



# Prevalencia de STEC O157 carcasas bovinas



**MUCHAS GRACIAS!!**

