

# AVES

La carne de ave comprende el tejido muscular, la piel adherida, el tejido conectivo y los órganos que se consumen (hígado, molleja y corazón). El contenido de agua de las porciones comestibles de las canales de aves es aproximadamente 70% para pollo parrillero mientras que el contenido de proteínas y lípidos es 20,5% y 2,7%, respectivamente (1). A diferencia de las carnes rojas (vaca, cerdo) la grasa en el pollo se encuentra justo por debajo de la piel y en la cavidad abdominal lo que facilita su remoción. El contenido de grasa varía con la edad, sexo, anatomía y especie aviar.

El sistema intensivo de cría, que limita el libre desplazamiento de las aves, constituye una de las principales causas de estrés y aumenta la difusión de los microorganismos de animal a animal. Además, el traslado de las aves a la planta de faena implica un período de ayuno y el hacinamiento de las aves en jaulas de pequeñas dimensiones que favorecen la infección por *Salmonella* (2). El ayuno es una práctica común al final del período de crianza y se lo realiza para reducir el contenido del tracto gastrointestinal, previo al procesamiento de las aves.

La infección del ave por parásitos del género *Eimeria* alteran la mucosa intestinal, barrera protectora natural del lumen intestinal, que favorece la proliferación de bacterias patógenas y la oportunidad que éstas alcancen otros órganos concluyendo en una septicemia (3,4).

Algunas bacterias de los géneros *Bacillus*, *Paenibacillus* y *Clostridium* se encuentran presentes en todo tipo de carnes, rojas y blancas, por otro lado, *Arcobacter* y *Campylobacter* se encuentran principalmente en las carnes de aves (5).

La contaminación interna del huevo puede provenir de infecciones en el ovario u oviducto de la gallina ponedora. Si el huevo es destinado para el consumo crudo y lleva el agente en la yema, puede desencadenar una infección alimentaria. Si es un huevo fértil, el pollito nacerá infectado. Entre las bacterias que pueden habitar el sistema reproductor de la gallina se

destacan *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, *Mycoplasma* sp y *Enterococcus* spp (1).

Por otro lado, todos los procesos involucrados con la faena de las aves que culminan con el envasado generan cambios en la microbiota del ave y pueden colaborar con la infección de las personas que las manipulan. Esta sería una de las formas de transmisión horizontal de *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y otras bacterias patógenas para el ser humano (6).

## DETERIORO

En el matadero la contaminación tiende a propagarse por: la contaminación cruzada entre aves vivas y canales, una temperatura insuficiente en el tanque de escaldado, los dedos de goma de la máquina desplumadora, la forma de evisceración, la conservación de la piel y un inadecuado enfriamiento final (7).

La población microbiana de las carcasas de las aves está constituida por la microbiota natural de la piel y las plumas, la microbiota transitoria durante la faena y los contaminantes que se adquieren durante el procesamiento (1). Las aves enteras suelen dar recuentos microbianos más bajos que las troceadas.

Los estudios de la microbiota bacteriana de la carne fresca de aves demostraron la presencia de unos 25 géneros diferentes. Sin embargo, cuando las canales se refrigeran para detener o reducir la contaminación, el principal agente causal de deterioro lo constituyen las especies de *Pseudomonas* (5). También se suelen encontrar *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Alcaligenes*, y algunas microbacterias y lactobacilos.

El deterioro de las aves está limitado a la superficie porque las partes internas de los tejidos generalmente son estériles o contienen microorganismos que no suelen crecer a bajas temperaturas. La mayor parte de los organismos están en la superficie y los recuentos superficiales por cm<sup>2</sup> ofrecen mayor información que los recuentos de muestras que incluyen tejidos profundos.

Las canales de aves frescas y almacenadas en un ambiente muy húmedo son muy susceptibles al ataque por *Pseudomonas*

y en los estados de alteración avanzados se observa fluorescencia en la superficie iluminada con luz ultravioleta (1).

Cuando la carne de ave sufre deterioro, los malos olores se perciben antes que la presencia de limo, siendo detectados por primera vez cuando el recuento microbiano es aproximadamente  $10^7$  ufc/cm<sup>2</sup>. El limo aparece después, con un recuento cercano a  $10^8$  ufc/cm<sup>2</sup>.

En el caso de la alteración microbiana del pollo sin eviscerar los microorganismos invaden los tejidos internos de la cavidad abdominal a través de las paredes intestinales. Esto provoca un característico olor ácido y el principal agente de dicha modificación es *Shewanella putrefaciens*. Esta bacteria es sensible a bajos pH pero crece bien al pH de la piel del ave (cerca de 6,6) y genera compuestos sulfurosos, provocando así el mal olor (1). También causa la alteración de las canales envueltas en plástico impermeable al oxígeno, junto a *Brochothrix thermosphacta* y lactobacilos atípicos (6).

La pechuga del pollo cuyo pH 5,7-5,9 se deteriora más lentamente que los muslos levemente más neutros (pH 6,3-6,6).

Los hongos no tienen un rol importante en el deterioro de este tipo de producto pero si se utilizan antibióticos para tratar de limitar el crecimiento bacteriano, las levaduras y mohos se tornan los principales agentes de alteración. *Candida*, *Rhodotorula*, *Debaromyces* y *Yarrowia* son levaduras comúnmente asociados con el deterioro de la carne de aves (7).

#### MICROORGANISMOS PATÓGENOS

La producción en gran escala de carne de aves ha generado una serie de problemas sanitarios. Se ha observado y publicado que porcentajes elevados de canales (de pollos y de pavos) contienen *Salmonella* spp., *Campylobacter jejuni* y *Listeria monocytogenes* (7). Con frecuencia se han detectado aves contaminadas con *Yersinia enterocolitica*, en un estudio hecho en el país, el 10% de los pollos faenados contenían especies de *Yersinia*, y el 4,3% *Y. enterocolitica* (8).

*Campylobacter jejuni*, es una bacteria gram-negativa, microaerófila, móvil, con forma de bacilos o espirilos. *Campylobacter* es transmitido al hombre a través de alimentos contaminados (aves, cerdos, leche), de aguas superficiales sin

cloro y por su distribución a través de la ruta fecal-oral a partir de animales o personas infectadas (9). *C. jejuni* es un habitante normal del intestino de las aves y junto a otras especies contaminan alrededor del 20% de las canales (10). Las prácticas “orgánicas” en los criaderos disminuye sensiblemente la presencia de cepas resistentes a los antimicrobianos (11).

#### RECUESTO DE *Enterobacteriaceae*

**a.** Hacer la suspensión de la muestra obtenida por extracción de una capa superficial de 100 cm<sup>2</sup>, por hisopado de igual área o por macerado de 25 g en 225 mL de diluyente. Preparar diluciones decimales (10<sup>-2</sup> - 10<sup>-6</sup>) y dejarlas a temperatura ambiente durante 1 hora para revitalizar las células.

**b.** Transferir 1 mL de cada una a sendas cajas de Petri. Volcar en las mismas unos 15 mL de agar VRBG fundido y enfriado a 50°C. Mezclar suavemente, girando las placas sobre la mesada, tres veces a la derecha y otro tanto a la izquierda.

**c.** Una vez que ha gelificado, verter unos 10 mL del mismo medio a 50°C y dejar enfriar. Incubar a 30 ó 42°C durante 24 horas.

**d.** Calcular el número de ufc por g ó cm<sup>2</sup>, multiplicando el número promedio de las colonias de color púrpura por el factor de dilución correspondiente.

AGAR VRBG. Extracto de levadura 3 g, peptona 7 g, cloruro de sodio 5 g, sales biliares 1,5 g, glucosa 10 g, rojo neutro 0,03 g, cristal violeta 0,002 g, agar 15 g, agua 1 litro, pH 7,4. Calentar hasta ebullición para disolver los ingredientes y mantener en baño de agua a 50°C (7).

*Listeria monocytogenes* es una bacteria de forma bacilar, gram-positiva, no esporulada, móvil, catalasa positiva que crece bien a temperaturas de refrigeración y a valores de  $a_w < 0,93$ . Se encuentra distribuida en aguas superficiales, hortalizas, carnes en canales y cuartos, carne picada, aves de corral y alimentos de origen marino. Como es una bacteria común también se halla en las instalaciones y equipamientos de las industrias lácteas y cárnicas (7).

El uso de fluoroquinolona en la producción de pollos selecciona la microbiota intestinal y cepas resistentes de *E. coli* enterovirulento pueden ser transmitidas al hombre (12).

PRESENCIA-AUSENCIA DE *Listeria monocytogenes*

**a.** Colocar la canal sin trozar en una bolsa plástica con 100 mL de peptona al 0,1%. Agitar y masajear la superficie durante 2 minutos (16). Mezclar 25 mL del líquido de lavado con 25 mL de caldo infusión de cerebro y corazón de doble concentración. Dejar 6 horas a temperatura ambiente.

**b.** Agregar 50 mL de caldo PALCAMY de doble concentración. Mezclar bien e incubar a 30°C durante 48 horas. Observar el ennegrecimiento completo del cultivo.

**c.** Sembrar en estría por agotamiento, sobre agar PASCAM. Incubar a 30°C durante 48 horas.

**d.** Observar colonias planas, regulares, de color negro verdoso sobre un fondo rojo cereza.

*CALDO INFUSIÓN DE CEREBRO Y CORAZÓN* (doble concentración). Infusión deshidratada de cerebro 25 g, infusión deshidratada de 10 g, triptona 20 g, glucosa 4 g, cloruro de sodio 10 g, fosfato disódico 5 g, agua 1 litro, pH 7,4. Esterilizar a 120°C durante 20 minutos.

*CALDO PALCAMY* (doble concentración). Tripteína 5 g, peptona 5 g, peptona de soja 5 g, digerido de corazón 3 g, extracto de levadura 3 g, almidón 1 g, cloruro de sodio 5 g, glucosa 0,5 g, manitol 10 g, esculina 0,75 g, citrato férrico amónico 0,5 g, cloruro de litio 15 g, rojo fenol 0,08 g, agua 500 mL, pH 7,2. Esterilizar a 120°C durante 20 minutos. Enfriar a 50°C y en condiciones de asepsia agregar los antimicrobianos y 25 mL de emulsión estéril de yema de huevo al 20%. Mezclar y distribuir en matraces estériles.

*EMULSIÓN DE YEMA DE HUEVO*. Lavar la cáscara con una solución al 0,1% de dodecil-sulfato de sodio y desinfectar con una dilución de lavandina comercial al 8% (hipoclorito de sodio 5,25%) recién preparada. Cascar, separar la yema y volcarla en un frasco graduado estéril con perlas de vidrio. Agregar 4 volúmenes de solución estéril de cloruro de sodio al 0,8% y agitar enérgicamente.

*ANTIMICROBIANOS*. Acriflavina 5 mg, sulfato de polimixina B 10<sup>5</sup> UI, ceftazidima pentahidratada 25 mg.

*AGAR PASCAM*. Tripteína 5 g, peptona 5 g, peptona de soja 5 g, digerido de corazón 3 g, extracto de levadura 3 g, almidón 1 g, cloruro de sodio 5 g, glucosa 0,5 g, manitol 10 g, esculina 0,75 g, citrato férrico amónico 0,5 g, cloruro de litio 15 g, rojo fenol 0,08 g, agar 15 g, agua 1 litro, pH 7,2. Esterilizar a 120°C durante 20 minutos. Enfriar aprox. a 48°C y en condiciones de asepsia agregar los antimicrobianos. Mezclar y distribuir en cajas de Petri estériles (7).

El art 257 del Código Alimentario Argentino autoriza la inmersión de las aves en solución de clortetraciclina y

clorhidrato de oxitetraciclina en concentración tal que el remenente no exceda las 7 ppm (13).

Los patos salvajes son el reservorio del virus de la influenza aviar, una zoonosis emergente (14). Por otra parte, la carne y las vísceras de pollo suele contener residuos de aflatoxinas, especialmente el hígado (15).

PRESENCIA- AUSENCIA DE *Campylobacter jejuni*

**a.** Colocar la canal sin trozar en una bolsa plástica con 100 mL de peptona al 0,1%. Agitar y masajear la superficie durante 2 minutos (16). Separar el líquido de lavado e incubar a 30°C durante 4 a 6 horas.

**b.** Agregar un volumen igual de caldo selectivo PCS de doble concentración. Mezclar bien e incubar a 42°C durante 16-24 horas.

**c.** Sembrar en estría por agotamiento, sobre agar selectivo PCS. Incubar bajo condiciones de microaerofilia a 42°C durante 48 hs.

**d.** Observar la formación de colonias de color gris, húmedas, planas y con un diámetro de 1 mm.

**CALDO PCS** (doble concentración). Proteosa peptona 15 g, digerido de hígado 2,5 g, extracto de levadura 5 g, cloruro de sodio 5 g, agua 500 mL, pH 7,5. Esterilizar a 120°C durante 20 minutos. Enfriar a 50°C y en condiciones de asepsia, agregar 25 mL de sangre de caballo lisada y los antimicrobianos. Mezclar y distribuir en matraces estériles.

**SANGRE DE CABALLO.** Lisar la sangre fresca por congelación-descongelación.

**ANTIMICROBIANOS.** Polimixina B  $5 \cdot 10^3$  UI, rifampicina 10 mg, lactato de trimetoprim 10 mg, cicloheximida 100 mg.

**AGAR PCS.** Proteosa peptona 15 g, digerido de hígado 2,5 g, extracto de levadura 5 g, cloruro de sodio 5 g, agar 15 g, agua 1 litro, pH 7,5. Esterilizar a 120°C durante 20 minutos. Enfriar aprox. a 50°C y en condiciones de asepsia agregar 50 mL de sangre de caballo lisada y los antimicrobianos. Mezclar y distribuir en cajas de Petri estériles (7).

**MICROAEROFILIA.** Colocar en la cámara de cierre hermético con un sobre para generar una atmósfera especial (10% CO<sub>2</sub>, 5% O<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>).

## ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El recuento de enterobacterias termotróficas a 42°C, permite evaluar la contaminación de origen intestinal en el matadero, siendo el nivel de referencia inferior a  $10^3 - 10^4$  ufc/cm<sup>2</sup>. Las pruebas directas de presencia-ausencia de

*Salmonella*, *Listeria*, *Campylobacter* y *Yersinia* pueden servir para calcular el porcentaje de canales contaminadas, pero hay que tener en cuenta que las canales no son descontaminadas para su comercialización (7). La identificación rápida se puede hacer por métodos tales como PCR-ELISA (16).

PRESENCIA-AUSENCIA DE *Yersinia enterocolitica*

**a.** Colocar la canal sin trozar en una bolsa plástica con 100 a 400 mL de peptona al 0,1% Agitar y masajear la superficie durante 2 minutos (17). Separar el líquido de lavado e incubar a 20-25°C durante 4 a 6 horas.

**b.** Dejar que las partículas de alimento sedimenten durante 10 minutos. Luego sembrar 10 mL en caldo selectivo BOS e incubar a 20-25°C durante 24-48 horas.

**c.** Agitar el cultivo y mezclar 1 mL, con 1 mL de solución acuosa de hidróxido de potasio al 0,5% y cloruro de sodio al 0,5%. Luego de 1 minuto, sembrar en estría por agotamiento, sobre agar CIN selectivo. Incubar a 20-25°C durante 48 hs.

**d.** Observar la formación de colonias con centro de color rojo oscuro y borde transparente.

**CALDO BOS.** Fosfato disódico 17,25 g, oxalato de sodio 5 g, sales biliares 2 g, cloruro de sodio 1 g, sulfato de magnesio 0,01 g, agua 670 mL, pH 7,6. Esterilizar a 120°C durante 20 minutos. Enfriar hasta 50°C y agregar los siguientes ingredientes esterilizados por filtración: sorbosa al 10% 100 mL, asparagina al 1% 100 mL, metionina al 1% 100 mL, extracto de levadura al 0,25% 10 mL, piruvato de sodio al 0,5% 10 mL, irgarsan al 0,4% (en etanol 95%) 1 mL, furadantina sódica al 0,1% (en acetona al 30%) 10 mL.

**AGAR CIN.** Peptona 20 g, extracto de levadura 2 g, D-manitol 20 g, piruvato sódico 2 g, cloruro de sodio 1 g, sulfato de magnesio 0,01 g, desoxicolato sódico 0,5 g, agar 15 g, agua 1 litro. Calentar hasta ebullición para disolver los ingredientes y enfriar hasta 50°C. Añadir los antimicrobianos esterilizados por filtración. Controlar el pH (7,4) y volcar en cajas de Petri estériles.

**ANTIMICROBIANOS.** Irgarsan al 0,4% (en etanol 95%) 1 mL, hidróxido de sodio 5 N 1 mL, rojo neutro al 0,3% 10 mL, violeta cristal al 0,01% 10 mL, cefsulodina al 0,15% 10 mL, novobiocina al 0,025% 10 mL (7).

REFERENCIAS

1. ICMSF. 1998. Microorganisms in Foods. Vol 6: Microbial Ecology of Food Commodities. Blackie Academic & Professional, p 75.

2. Holt P.S. 1994. En: Proceedings World's Poultry Science Association. European Poultry Conference, Glasgow, p 185.
3. Kosugi Y *et al.* 1986. *Avian Dis.* 30: 313-318.
4. Fukata T *et al.* 1987. *Poultry Sci.* 66: 760-761.
5. Jay JM *et al.* 2005. *Modern Food Microbiology.* 7<sup>o</sup> ed. Springer, New York, p 63.
6. Doyle MP *et al.*, eds. 1997. *Food Microbiology.* ASM Press, Washington, p 83.
7. Mossel DAA *et al.* 2003. *Microbiología de los Alimentos.* 2<sup>a</sup> ed. Acribia, Zaragoza, p 516, 606, 610, 631.
8. Floccari ME *et al.* 2000. *J. Food Protect.* 63 : 1591- 1593.
9. Workman SN *et al.* 2005. *J. Clin. Microbiol.* 43 : 2642-2650.
10. Ge B *et al.* 2003. *Appl. Environ. Microbiol.* 69 : 3005-3007.
11. Luangtongkum T *et al.* 2006. *Appl Environ Microbiol* 72: 3600-3007.
12. Johnson JR *et al.* 2003, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 47 : 2161-2168.
13. Código Alimentario Argentino. <http://www.anmat.gov.ar/codigoo/caa1.htm> Cap 6.
14. Tumpey TM *et al.* 2002. *J. Virology* 76 : 6344-6355.
15. Arrieta Mendoza D *et al.* 2006. *Revista Científica, FCV-LUZ* 16: 39-47.
16. Hong Y *et al.* 2003. *Appl Environ Microbiol* 69: 3492-3499.
17. Oyarzabal OA *et al.* 2005. *Appl Environ Microbiol* 71: 3351-3354.