Estudio de comparación de líneas base de grupos indicadores en dos plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras

Indhira Margarita Pulinario Lorenzo

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras
Noviembre, 2019

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Estudio de comparación de líneas base de grupos indicadores en dos plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Indhira Margarita Pulinario Lorenzo

Zamorano, Honduras
Noviembre, 2019

Estudio de comparación de líneas base de grupos indicadores en dos plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras

Presentado por:

Indhira Margarita Pulinario Lorenzo

Aprobado:

Mayra Márquez González, Ph.D.
Asesora Principal

Mayra Márquez González, Ph.D.
Directora
Departamento de Agroindustria Alimentaria

por Marcos X. Sánchez-Plata, Ph.D.
Asesor

Luis Fernando Osorio, Ph.D.
Decano Académico

Edward Moncada M.A.E.
Asesor

Estudio de comparación de líneas base de grupos indicadores en dos plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras

Indhira Margarita Pulinario Lorenzo

Resumen. Los grupos indicadores son aquellos microorganismos que denotan una posible exposición a contaminación que compromete la inocuidad de los alimentos en el procesamiento y que están relacionados con la presencia de patógenos asociados a higiene ineficiente. Como una forma de evaluar el desempeño de higiene durante el proceso de cosecha de pollos se realizó una comparación de líneas base de cuatro grupos indicadores (bacterias mesófilas aerobias, enterobacterias, coliformes y *Escherichia coli*) en tres estaciones de muestreo de dos establecimientos de producción ubicados en Estados Unidos y Honduras. Además, se evaluó el control estadístico de proceso en la estación de Post-enfriamiento. A lo largo de la línea de procesamiento se evidenció la reducción logarítmica en bacterias mesófilas aerobias de 5.20 y 2.09 Log UFC/mL en los Estados Unidos y Honduras respectivamente. En el caso de *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* y coliformes, se obtuvieron reducciones de 5.24 y 2.25 Log UFC/ml; 4.86 y 2.20 Log UFC/ mL y 4.93 y 2.37 Log UFC/mL para los Estados Unidos y Honduras respectivamente. En la estación de Post-enfriamiento se estableció que no se cumple con control estadístico del proceso por patrones de amplio desplazamiento y periodicidad, sin embargo, sí se cumple con los límites máximos permitidos por la legislación. Este tipo de metodología ayuda a los procesadores a identificar puntos de mejora en las intervenciones que se realizan a lo largo del proceso y a su vez demostrar con procedimientos escritos si efectivamente llevan un control microbiológico.

Palabras clave: Aves de corral, control estadístico de proceso, inspección, microorganismos indicadores.

Abstract. Indicator groups are those microorganisms that demonstrate a possible exposure to contamination that compromises food safety in processing facilities and are related to the presence of pathogens associated with deficient hygiene. As a way of assessing the performance of hygiene in the control of microorganisms, a baseline study of four indicator groups (aerobic plate count, *Enterobacteriaceae*, coliforms and *Escherichia coli*) was developed in three sampling stations of two production facilities located in the United States and Honduras. Also, the statistical process control in the Post-chiller station was evaluated. Along the processing line, the logarithmic reduction in aerobic plate count was 5.20 and 2.09 Log CFU/mL in the United States and Honduras respectively. In the case of Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* and coliforms, reductions of 5.24 and 2.25 log CFU/ ml were obtained; 4.86 and 2.20 Log CFU / mL and 4.93 and 2.37 Log CFU / mL for the United States and Honduras respectively. In the Post-chiller station, the statistical control of the process was not met due to patterns of large shift and periodicity; however, the maximum limits allowed by the legislation were met. This kind of methodology helps the processors to identify points to improve the interventions that are carried out throughout the process and to demonstrate with written procedures if they follow a microbiological control.

Key words: Indicator microorganisms, inspection, statistical process control, poultry.

CONTENIDO

Portadilla..... i
Página de firmas ii
Resumen iii
Contenido iv
Indice de Cuadros, Figuras y Anexos..... v

1. INTRODUCCIÓN..... 1

2. MATERIALES Y MÉTODOS..... 3

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... 5

4. CONCLUSIONES..... 22

5. RECOMENDACIONES..... 23

6. LITERATURA CITADA..... 24

7. ANEXOS 28

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

Cuadros Página

1. Comparación de recuentos de muestras cuantificables positivas para bacterias mesófilas aerobias en Estados Unidos y Honduras (Log_{10} UFC/mL). 5
2. Distribución de bacterias mesófilas aerobias en pollos enteros en Estados Unidos 6
3. Distribución de bacterias mesófilas aerobias en pollos enteros en Honduras. 7
4. Comparación de recuentos de muestras cuantificables positivas para *Enterobacteriaceae* en Estados Unidos y Honduras (Log_{10} UFC/mL). 8
5. Distribución de *Enterobacteriaceae* en pollos enteros en Estados Unidos. 9
6. Distribución de Enterobacteriaceae en pollos enteros en Honduras. 10
7. Comparación de recuentos de muestras cuantificables positivas para coliformes totales en Estados Unidos y Honduras (Log_{10} UFC/mL). 11
8. Distribución de coliformes totales en pollos enteros en Estados Unidos. 12
9. Distribución de coliformes totales en pollos enteros en Honduras. 13
10. Comparación de recuentos de muestras cuantificables positivas para *Escherichia coli* en Estados Unidos y Honduras (Log_{10} UFC/mL)..... 14
11. Distribución de *Escherichia coli* en pollos enteros en Estados Unidos. 15
12. Distribución de *Escherichia coli* en pollos enteros en Honduras. 16

Figuras Página

1. Diagrama de la línea de procesamiento de pollos. Las estrellas representan los lugares de muestreo. 3
2. Gráfico de control $\bar{x}$ para bacterias mesófilas aerobias en la estación de post-enfriamiento en Estados Unidos y Honduras 18
3. Gráfico de control $\bar{x}$ para *Enterobacteriaceae* en la estación de post-enfriamiento en Estados Unidos y Honduras 19
4. Gráfico de control $\bar{x}$ para coliformes totales en la estación de post-enfriamiento en Estados Unidos y Honduras. 20
5. Gráfico de control $\bar{x}$ para *Escherichia coli* en la estación de post-enfriamiento en Estados Unidos y Honduras 21

Anexos Página

1. Distribución de bacterias mesófilas aerobias en plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras. 28
2. Análisis de varianza (ANDEVA) para bacterias mesófilas aerobias evaluadas en plantas de procesamiento de pollo de Estados Unidos y Honduras 28
3. Distribución de *Enterobacteriaceae* en plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras. 29
4. Análisis de varianza (ANDEVA) para *Enterobacteriaceae* evaluadas en plantas de procesamiento de pollo de Estados Unidos y Honduras. 29
5. Distribución de coliformes en plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras. 30
6. Análisis de varianza (ANDEVA) para coliformes totales evaluadas en plantas de procesamiento de pollo de Estados Unidos y Honduras. 30
7. Distribución de *Escherichia coli* en plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras. 31
8. Análisis de varianza (ANDEVA) para *Escherichia coli* evaluadas en plantas de procesamiento de pollo de Estados Unidos y Honduras. 31

1. INTRODUCCIÓN

En la industria de alimentos, uno de los principales riesgos a los que se enfrentan los procesadores son las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA). En Estados Unidos las enfermedades asociadas al consumo de alimentos como el pollo representan el 17.9 por ciento de las producidas por bacterias entre los años 1998 -2008 (Painter *et al*. 2013). En el caso del pollo y sus productos derivados, podemos encontrar una variedad heterogénea de microrganismos que pueden estar presentes o que por medio de contaminación cruzada llegan al alimento, una situación que se trata de prevenir con la aplicación de buenas prácticas de manufactura y procedimientos operativos estandarizados de saneamiento (Capita *et al.* 2002).

La industria de procesamiento de pollo ha estado en constante crecimiento y ha tenido que producir más sin afectar la calidad microbiológica como forma de asegurar la inocuidad de los productos que llegarán al consumidor. Una de las formas de asegurar que se cumpla con los requerimientos es evaluando la presencia de microorganismos indicadores de higiene y calidad de almacenamiento como son Bacterias mesófilas aerobias, *Enterobacteriaceae*, coliformes y *Escherichia coli* (FSIS 2012).

El crecimiento de la industria de procesamiento avícola no es un caso aislado para países desarrollados como es el caso de los Estados Unidos; países en desarrollo como Honduras, han mostrado un crecimiento significativo en la producción y el procesamiento de pollo con valores que para el año 2017 superaban las 19 mil toneladas (FAOSTAT 2019). Si bien la demanda de productos derivados del pollo ha ido aumentando, las autoridades de los Estados Unidos y Honduras están enfocando sus esfuerzos para garantizar la inocuidad de la carne procesada de aves de corral al exigir nuevos estándares en el control microbiológico para proteger a los consumidores de patógenos que son potencialmente responsables de brotes en alimentos, tales como *Salmonella* spp. y *Campylobacter* spp. (FSIS 2015).

Todas las instalaciones de procesamiento de aves de corral ubicadas en los Estados Unidos deben desarrollar y mantener procedimientos escritos que muestren el estado microbiológico de las canales en toda la línea de procesamiento, esto como una forma de prevenir la contaminación por patógenos entéricos y materia fecal (9 CFR 381.65 inciso (g)) además de cumplir con la legislación final que trata de modernizar las inspecciones oficiales de canales (NPIS por sus siglas en inglés).

Organismos como el Sistema de Inspección de Inocuidad de Alimentos en los Estados Unidos (FSIS por sus siglas en inglés) recomienda establecer líneas base microbianas mediante el muestreo y el análisis de microrganismos indicadores y patógenos entéricos en diferentes etapas de la línea de procesamiento, de manera que se puedan crear mapas

biológicos a partir de varios puntos en la cadena y determinar áreas de impacto microbiológico por contaminación fecal (FSIS 2015). El uso de bacterias indicadoras es efectivo para facilitar a los procesadores el poder monitorear la reducción microbiológica durante el procesamiento de aves de corral (FR1996).

De acuerdo con el FSIS y el Código de Regulaciones Federales (CFR por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos, los establecimientos con un tamaño pequeño (10-499 empleados) y grandes (500 o más empleados) deben realizar al menos un evento de muestreo por semana (FSIS 2015).“La norma obliga a todos los establecimientos que sacrifican ganado, cerdos, pollos o pavos a evaluar los productos para *Escherichia coli* Biotipo 1 (*E. coli* genérica, un organismo utilizado para rastrear el control del proceso de contaminación fecal) con una frecuencia basada en el volumen de producción” (FSIS 2012).

En Honduras, el organismo responsable del control de seguridad de los alimentos en este tipo de instalaciones es el “Servicio Nacional de Sanidad e Inocuidad Agroalimentaria” (SENASA). SENASA ha desarrollado requisitos para el muestreo microbiológico correcto durante la línea de sacrificio para garantizar la inocuidad de los alimentos y explicar los criterios microbiológicos para microorganismos como *Escherichia coli* y *Salmonella* spp., y la cantidad y frecuencia de muestreo según el volumen de producción (SENASA 2017).

El uso de gráficos de control como una forma de evaluar el control estadístico de un proceso ha sido utilizado en diversas matrices no solo alimenticias con el objetivo de detectar cambios en el proceso de producción, monitorear, controlar e incluso mejorarlo (De Vries y Reneau 2010). Los objetivos de la presente investigación fueron:

- Identificar las líneas base de grupos indicadores en establecimientos procesadores de pollo para determinar niveles de bacterias mesófilas aerobias, *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* y coliformes en distintos puntos del proceso.

- Comparar líneas base de grupos indicadores en establecimientos procesadores de pollo de Estados Unidos y Honduras en tres etapas de procesamiento.

- Establecer control estadístico de proceso en estaciones de importancia microbiológica para cada bacteria indicadora.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar del estudio.
Para este estudio fueron seleccionados dos establecimientos procesadores de pollo ubicados en Estados Unidos y Honduras clasificados como pequeños según el FSIS por tener menos de 500 empleados. En la primera planta ubicada en Estados Unidos, con una capacidad de 300,000 aves por día, el muestreo fue realizado en el mes de enero. En el caso de Honduras, con una capacidad de 33,000 aves por día, el muestreo se realizó entre los meses de agosto y septiembre en Tegucigalpa

Toma de muestra.
Durante una semana completa de procesamiento se llevó a cabo la recolección de muestras de pollo entero provenientes de tres estaciones o puntos de muestreo (Figura 1) a lo largo de la linea de procesamiento en cada una de las plantas. El procedimieto de muestreo se llevó a cabo siguiendo lo descrito por la directiva 10250.1 del Sistema de Inspección de Inocuidad de Alimentos de los Estados Unidos (FSIS 2013).

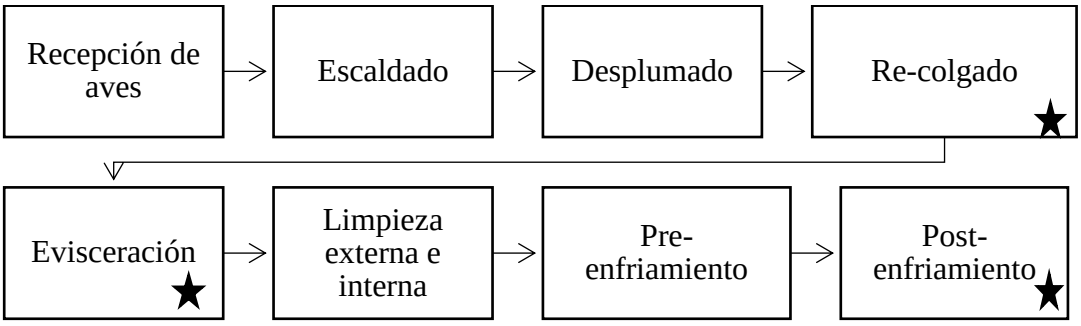


Figura 1. Diagrama de la línea de procesamiento de pollos. Las estrellas representan los lugares de muestreo.

Se recolectaron 10 muestras de enjuague de pollo crudo en tres estaciones: re-colgado, posterior a la evisceración y en post-enfriamiento durante cinco días consecutivos, de esta forma se buscó establecer niveles de bacterias indicadoras en las tres etapas de interés. En cada estación los pollos fueron escogidos al azar por el personal del programa de inspección y luego colocados en bolsas estériles de muestreo (Nasco Poultry Rinse Bags 37.5 × 50 cm) para así obtener su enjuague utilizando 400 mL de agua de peptona tamponada (BPW por sus siglas en inglés) y agitando vigorozamente durante un minuto.

De los 400 mL necesarios para el enjuague, se tomaron 100 mL para llevar al laboratorio para su posterior análisis (FSIS 2012). Las muestras fueron transportadas al laboratorio bajo condiciones de refrigeración tomando en cuenta que una vez tomada la muestra se debe de analizar antes de las 24 horas (Bohaychuk *et al.* 2009).

Preparación de muestras

Las muestras, transportadas en condiciones de refrigeración, a su llegada al laboratorio se procesaron mediante dilución en serie para obtener concentraciones contables. Para cada muestra de enjuague de pollo dependiendo de la estación se realizaron diferentes diluciones considerando que las muestras de las primeras estaciones se caracterizan por tener altas concentraciones microbianas. Para la estación de re-colgado, se realizaron seis diluciones a cada muestra. En la estación de post-evisceración, cuatro diluciones. Por último, en la estación de post-enfriamiento,se realizaron tres diluciones para cada muestra. En la realización de las diluciones se utilizó un mL de enjuague (dilución 10^0) y se vertió en nueve mL de BPW para formar la dilución 10^1 (Kim *et al.* 2017).

Todas las muestras se sembraron en tres tipos de Petrifilm^{TM} de acuerdo con el tipo de microoranismo indicador de interés a evaluar. Para enumerar el recuento de placas aeróbicas o bacterias mesófilas aerobias (APC) se usaron placas de recuento aeróbico con nutrientes estandar bajo el método AOAC 990.12. En el caso de *Escherichia coli* y coliformes, se trabajó bajo la metodología AOAC 998.08 (Chowdhury 2019) y se utilizaron Petrifilm^{TM} con medio Rojo Bilis Violeta. Por último para *Enterobacteriaceae* se trabajó con la metodología AOAC 2003.01 (AOAC) usando Petrifilm^{TM} con medio Rojo Bilis Violeta mas glucosa. Para establecer recuentos certeros se platearon cuatro diluciones de cada muestra por tipo de Petrifilm^{TM}. Las placas Petrifilm^{TM} para bacterias mesófilas aerobias se incubaron durante 48 horas a 35 ± 2° C. Para *E. coli*, coliformes y *Enterobacteriacea* las placas Petrifilm^{TM} se incubaron durante 24 horas a 35 ± 2° C. (USDA 2015).

Diseño experimental y análisis estadístico. Para el análisis de la poblacion microbiana en los distintos puntos de muestreo se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con un arreglo factorial de 2 por 3, dos plantas de procesamiento por tres sitios de muestreo. Se realizaron cinco repeticiones representadas por los días de muestreo en la semana de procesamiento. Además se realizaron 10 réplicas por estación durante cuatro días y durante el quinto día 11 para tener un total de 51 replicas por estación . Se usó el Programa SAS 9.4® como programa estadístico con un nivel de significancia $P < 0.05$ para establecer si había diferencias significativas entre las estaciones y los países para cada grupo indicador. Para el reporte de los datos fueron estimados aquellos valores inferiores al límite de detección de microorganismos utilizando petrifilm que es de 1 UFC/mL (FSIS 2006). Los resultados fueron expresados en logaritmo de unidades formadores de colonias por cada mililitro de enjuague de pollo (Log UFC/mL) como una mejor escala para presentar los datos y graficarlos (Saini *et al*. 2011).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Líneas base.

Durante el análisis de las muestras recolectadas en Estados Unidos y Honduras se obtuvieron los porcentajes de muestras cuantificables positivas para cada bacteria entre estaciones. Se consideraron positivas aquellas muestras cuyos conteos fueron superiores al límite teórico mínimo de detección >1 UFC/mL (FSIS 2008). De un total de 51 muestras por estación, en los Estados Unidos el 96.08 y 82.35% de las muestras de re-colgado y post-evisceración respectivamente fueron positivas para bacterias mesófilas aerobias, por otra parte, en Honduras el 100% de las muestras fueron positivas en ambas estaciones (Cuadro 1). En la última estación, post-enfriamiento, el 54.90 y 98.04% de las muestras fueron positivas para mesófilos en los Estados Unidos y Honduras, respectivamente.

Cuadro 1. Comparación de recuentos de muestras cuantificables positivas para bacterias mesófilas aerobias en Estados Unidos y Honduras (Log10 UFC/mL).

	Estados Unidos		Honduras	
Estaciones de muestreo	**n**	**[1]Media±D.E**	**n**	**[1]Media±D.E**
Re-colgado	49	$6.06 \pm 1.03^{A\,x}$	51	$5.17 \pm 0.39^{A\,y}$
Post-evisceración	42	$5.11 \pm 0.95^{B\,x}$	51	$5.10 \pm 0.69^{A\,x}$
Post-enfriamiento	28	$0.84 \pm 1.15^{C\,y}$	50	$3.08 \pm 0.53^{B\,x}$
Coeficiente de variación (%)	19.84			

^{ABC} Las medias con diferentes letras presentan diferencias significativas entre estaciones de muestreo ($P < 0.05$). ^{xyz} Las medias con diferentes letras presentan diferencias significativas entre estaciones de plantas ($P < 0.05$). D.E. desviación estándar. [1]Unidades expresadas como logaritmo de las unidades formadoras de colonia por mililitro de enjuague (Log_{10} UFC/mL).

Desde la primera etapa de procesamiento evaluada hasta la última se obtuvo una reducción de los niveles de bacterias mesófilas aerobias en la planta Estados Unidos de aproximadamente 5.20 Log UFC/mL mientras que en Honduras se redujo en 2.09 Log UFC/mL. Al comparar estaciones entre países se encontró diferencia significativa para los niveles de bacterias mesófilas aerobias en la estación de re-colgado de Estados Unidos con una media de 6.04 ± 1.02 Log UFC/mL y Honduras 5.1 ± 0.39 Log UFC/mL. Handley y colaboradores en el 2018 al crear una línea base a partir de los recuentos de tres plantas de procesamiento de pollo obtuvieron una media de 4.63 ± 0.33 Log UFC/mL. En el caso de

la estación de post-evisceración no se encontraron diferencias significativas entre plantas de procesamiento. Por otro lado, sí se determinó diferencia en la estación de post-enfriamiento con medias de 0.84 $\pm$ 1.15 y 3.08 $\pm$ 0.53 Log UFC/mL para Estados Unidos y Honduras respectivamente. Recuentos similares a los obtenidos en Honduras fueron reportados en investigaciones previas donde la media para bacterias mesófilas aerobias luego del enfriamiento fue de 3.2 $\pm$ 0.40 Log UFC/mL utilizando un enfriador con alto volumen de inmersión (Northcutt *et al.* 2006).

En el cuadro 2 se reporta la distribución de muestras cuantificadas positivas para bacterias mesófilas aerobias en los Estados Unidos. Para re-colgado el 41.18% de las muestras cuantificables se obtuvieron recuentos entre 10,000-1,000,000 UFC/mL (4-6 Log UFC/mL) y ninguna de las muestras estuvieron por debajo del límite de detección que en esta estación fue de 1,000 UFC/mL. Investigaciones previas tuvieron resultados similares a los obtenidos con un 99.9% de las muestras por encima del límite de detección en la estación de re-colgado (FSIS 2008). Luego de la evisceración, se reportó una distribución entre 10,000-1,000,000 del 56.87 % mostrando un aumento en los niveles de mesófilos. En la última estación se nota una reducción de los niveles de bacterias mesófilas aerobias, teniendo 49.02% de las muestras de 1-100 UFC/mL.

Cuadro 2. Distribución de bacterias mesófilas aerobias en pollos enteros en Estados Unidos.

Nivel de UFC/mL de enjuagues por estación del proceso	**Número de muestras positivas**	**(%)**	**(%) acumulativo**
Re-colgado			
LOD<1,000	0	0.0	00.0
10,001-100,000	10	19.6	19.6
100,001-1,000,000	11	21.5	41.1
1,000,000-10,000,000	28	54.9	96.0
TNTC	2	03.9	100.0
Post-evisceración			
LOD<1,000	0	0.0	00.0
1,001-10,000	9	17.6	17.6
10,001-100,000	10	19.6	37.2
100,001-1,000,000	19	37.2	74.5
1,000,000-10,000,000	4	07.8	82.3
TNTC	9	17.6	100.0
Post-enfriamiento			
LOD<1	23	45.0	45.0
1-100	25	49.0	94.1
101-1,000	3	05.8	100.0
>1,001	0	00.0	100.0

LOD, Límite de detección.
TNTC, muy numeroso para contar (>250,000,000)

Al evaluar la distribución de bacterias mesófilas aerobias en las distintas etapas del proceso en la planta de Honduras se determinó que en ninguna de las estaciones se obtuvieron muestras con recuentos por debajo del límite de detección (Cuadro 3). En la estación de re-colgado el 94.12% de las muestras se encontraron en un rango entre 10,000-1,000,000 UFC/mL mientras que en la estación de post-evisceración el 90.20 % de las muestras estuvieron en este rango mostrando que la distribución de muestras entre estaciones pertenecientes a este rango fue similar. El comportamiento de la distribución de bacterias mesófilas aerobias luego del enfriamiento mostró una reducción de la carga microbiológica donde el 56.86% de las muestras estuvieron en un rango de 1,001-10,000 UFC/mL.

Cuadro 3. Distribución de bacterias mesófilas aerobias en pollos enteros en Honduras.

Nivel de UFC/mL de enjuagues por estación del proceso	**Número de muestras positivas**	**(%)**	**(%) acumulativo**
Re-colgado			
LOD<1,000	0	00.0	00.0
10,001-100,000	13	25.4	25.4
100,001-1,000,000	35	68.6	94.1
>1,000,000	3	05.8	100.0
Post-evisceración			
LOD<1,000	0	00.0	00.0
1,001-10,000	0	00.0	00.0
10,001-100,000	27	52.9	52.9
100,001-1,000,000	19	37.2	90.2
>1,000,000	5	09.8	100.0
Post-enfriamiento			
LOD<1	0	00.0	00.0
1-100	0	00.0	00.0
101-1,000	21	41.1	41.1
1,001-10,000	29	56.8	98.0
>1,000,000	1	01.9	100.0

LOD, Límite de detección.
TNTC, muy numeroso para contar (>250,000,000).

Las bacterias mesófilas aerobias son consideradas como indicadoras de las condiciones higiénicas del proceso y en estudios se ha determinado su relación con bacterias entéricas como *Enterobacteriaceae* y E. *coli* (Ghafir *et al.* 2008). Estas bacterias no son utilizadas como indicadoras de la presencia de bacterias patógenas, solo nos indican niveles de limpieza y manejo del alimento adecuado (Ray 2004). Según los resultados obtenidos ambas plantas logran manejar los niveles de bacterias mesófilas aerobias a lo largo de la línea de procesamiento y logran niveles por debajo del límite máximo permitido al evaluarse el producto final en la estación de post-enfriamiento (6 Log UFC/mL) de acuerdo al comité asesor nacional sobre criterios microbiológicos para los alimentos de Estados Unidos (NACMCF 2014).

El cuadro 4 muestra los niveles de *Enterobacteriaceae* a lo largo de la línea de procesamiento de pollos. Las *Enterobacteriaceae* son principalmente usadas para evaluar calidad sanitaria en productos procesados y para demostrar elaboración higiénica (Pascual y Calderón 2000). En la planta de Estados Unidos se presentó diferencia significativa entre estaciones muestreadas, mostrando un porcentaje de muestras cuantificables positivas para *Enterobacteriaceae* de 94.12, 86.27 y 21.57 % en las estaciones de re-colgado, post-evisceración y post-enfriamiento respectivamente. En el caso de la planta evaluada en Honduras 100% de las muestras de cada estación fueron cuantificadas como positivas para *Enterobacteriaceae.*

Cuadro 4. Comparación de recuentos de muestras cuantificables positivas para *Enterobacteriaceae* en Estados Unidos y Honduras (Log10 UFC/mL).

Estaciones de muestreo	**Estados Unidos**		**Honduras**	
	n	**[1]Media±D.E**	**n**	**[1]Media±D.E**
Re-colgado	48	5.57 ± 0.93 $^{A\,x}$	51	4.27 ± 0.58 $^{A\,y}$
Post-evisceración	44	4.68 ± 1.09 $^{B\,x}$	51	4.48 ± 0.80 $^{AB\,x}$
Post-enfriamiento	11	0.33 ± 0.84 $^{C\,y}$	51	2.02 ± 0.47 $^{B\,x}$
Coeficiente de variación (%)	22.69			

^{ABC} Las medias con diferentes letras presentan diferencias significativas entre estaciones de muestreo ($P < 0.05$). ^{xyz} Las medias con diferentes letras presentan diferencias significativas entre estaciones de plantas ($P < 0.05$). D.E. desviación estándar. [1]Unidades expresadas como logaritmo de las unidades formadoras de colonia por mililitro de enjuague (Log_{10} UFC/mL).

Al realizar la separación de medias, en los recuentos de *Enterobacteriaceae* para la planta de Estados Unidos se encontraron diferencias significativas entre estaciones con una reducción de 5.24 Log UFC/mL y en el caso de la planta de Honduras se obtuvo una reducción de 2. 25 Log UFC/mL desde la primera estación a la última. Además, se encontró diferencia significativa entre las estaciones de re-colgado y post-enfriamiento (Cuadro 4), sin embargo, no se pudo establecer diferencia significativa entre la estación de post-evisceración y las demás estaciones.

Comparando los niveles de *Enterobacteriaceae* de cada planta, se determinó que en la estación de re-colgado hubo diferencia significativa con medias de 5.57 ± 0.93 y 4.27 ± 0.58 Log UFC/mL en Estados Unidos y Honduras. No se encontró diferencia significativa en la estación de post-evisceración entre plantas con medias de 4.68 ± 1.09 y 4.48 ± 0.80 Log UFC/mL para Estados Unidos y Honduras respectivamente. Luego del enfriamiento se encontró diferencia significativa entre plantas con medias de 0.33 ± 0.84 para Estados Unidos y 2.02 ± 0.47 Log UFC/mL en Honduras. Investigaciones previas indicaron tener recuentos para *Enterobacteriaceae* similares a los obtenidos en las muestras de la estación de post-enfriamiento con una media de 1.6 ± 0.2 Log UFC/mL (Northcutt *et al.* 2006). Por

otro lado, en un estudio previo con una metodología similar a la vista en este estudio se obtuvieron niveles de 2.99 $\pm$ 0.38 y 0.12 $\pm$ 0.30 Log UFC/mL en las estaciones de re-colgado y post-enfriamiento respectivamente (Handley *et al.* 2018).

El cuadro 5 muestra la distribución de los recuentos de *Enterobacteriaceae* en las distintas estaciones de muestreo En Estados Unidos. En la estación de re-colgado del 54.90% de las muestras cuantificadas positivas se obtuvieron recuentos entre 10,000-1,000,000 UFC/mL. Luego de la evisceración el 47.06% de las muestras positivas estuvieron en un rango de 10,000-1,000,000 UFC/mL. En la última estación, los recuentos de las muestras cuantificadas positivas estuvieron en el rango de 1-1,000 representando el 21.57% de las muestras. Al tratarse de un producto como pollo crudo, es de vital importancia que luego de la etapa de enfriamiento los niveles de *Enterobacteriaceae* sean inferiores al límite máximo permitido que en este caso es de <10,000 UFC/mL y en el caso de esta planta ninguna de las muestras en esta etapa supera el límite (NACMCF 2014).

Cuadro 5. Distribución de *Enterobacteriaceae* en pollos enteros en Estados Unidos.

Nivel de UFC/mL de enjuagues por estación del proceso	**Número de muestras positivas**	**(%)**	**(%) acumulativo**
Re-colgado			
LOD<1,000	1	01.9	01.9
1,000-10,000	3	05.8	07.8
10,001-100,000	10	19.6	27.5
100,001-1,000,000	18	35.2	62.8
>1,000,000	17	33.3	96.0
TNTC	2	03.9	100.0
Post-evisceración			
LOD<1,000	0	00.0	00.0
1,001-10,000	15	29.4	29.4
10,001-100,000	10	19.6	49.0
100,001-1,000,000	14	27.4	76.5
>1,000,000	5	09.8	86.3
TNTC	7	13.7	100.0
Post-enfriamiento			
LOD<1	40	78.4	78.4
1-100	9	17.6	96.1
101-1,000	2	03.9	100.0
>1,000	0	00.0	100.0

LOD, Límite de detección.
TNTC, muy numeroso para contar (>250,000,000).

Las *Enterobacteriaceae* pueden estar presentes en los alimentos como parte de su microflora natural o pueden ser introducidas por medio de contaminación luego del procesamiento. El uso de *Enterobacteriaceae* como microorganismo indicador es debido a

que los coliformes, coliformes fecales al igual que *E. coli* son consideradas bacterias dentro de ese grupo que fermentan lactosa para formar ácido y gas, sin embargo, no todas las bacterias entéricas fermentan lactosa por lo que se busca mejor evaluar los niveles del género completo como un mejor indicador (Ray 2004).

En el cuadro 6 se detalla la distribución de los recuentos de *Enterobacteriaceae* en las distintas estaciones de muestreo en Honduras. En ninguna de las estaciones se obtuvieron muestras por debajo del límite de detección específico para cada estación. En la estación de re-colgado las muestras cuantificadas positivas en un rango de 10,000-1,000,000 UFC/mL representaron el 66.66%. Luego de la evisceración el 72.55% de las muestras positivas estuvieron en un rango de 10,000-1,000,000 UFC/mL.

Cuadro 6. Distribución de Enterobacteriaceae en pollos enteros en Honduras.

Nivel de UFC/mL de enjuagues por estación del proceso	**Número de muestras positivas**	**(%)**	**(%) acumulativo**
Re-colgado			
LOD<1,000	0	00.0	00.0
1,000-10,000	16	31.3	31.3
10,001-100,000	30	58.8	90.2
100,001-1,000,000	4	07.8	98.0
>1,000,000	1	01.9	100.0
Post-evisceración			
LOD<1,000	1	01.9	01.9
1,001-10,000	10	19.6	21.5
10,001-100,000	34	66.6	88.2
100,001-1,000,000	3	05.8	94.1
>1,000,000	3	05.8	100.0
Post-enfriamiento			
LOD<1	0	00.0	00.0
1-100	29	56.8	56.8
101-1,000	21	41.1	98.0
>1000	1	01.9	100.0

LOD, Límite de detección.
TNTC, muy numeroso para contar (>250,000,000).

En la estación de post-enfriamiento en Honduras el 100% de los recuentos estuvieron en el rango de 1-1,000. Al igual que la planta evaluada en Estados Unidos, ninguna de las muestras luego de la etapa de enfriamiento superó el límite máximo permitido para pollo crudo como producto final (<10,000 UFC/mL). Se determinó que en ambas plantas el conjunto de buenas prácticas de manufactura, procesos operativos estandarizados de

sanitización además de intervenciones químicas permiten tener un producto que cumple con el límite (NACMCF 2014).

El cuadro 7 muestra la comparación de los niveles de coliformes totales a lo largo de la línea de procesamiento en ambas plantas de procesamiento de pollo De 51 muestras evaluadas en cada estación en los Estados Unidos, el 98.04% de las muestras se cuantificaron como positivas para coliformes en las estaciones de re-colgado y post-evisceración, mientras que en la estación de post-enfriamiento solo el 27.45 de las muestras se reportaron como positivas. En las estaciones de re-colgado y post-enfriamiento evaluadas para coliformes en Honduras el 100% de las muestras de cuantificaron como positivas, mientras que en la estación de post-evisceración el 94.12% de las muestras fueron positivas.

Cuadro 7. Comparación de recuentos de muestras cuantificables positivas para coliformes totales en Estados Unidos y Honduras (Log10 UFC/mL).

	Estados Unidos		**Honduras**	
Estaciones de muestreo	**n**	**[1]Media±D.E**	**n**	**[1]Media±D.E**
Re-colgado	50	$5.20 \pm 1.03^{A\,x}$	51	$4.22 \pm 0.57^{A\,y}$
Post-evisceración	50	$4.15 \pm 0.89^{B\,x}$	48	$4.38 \pm 0.84^{AB\,x}$
Post-enfriamiento	14	$0.27 \pm 0.55^{C\,x}$	51	$1.85 \pm 0.41^{B\,x}$
Coeficiente de variación (%)	22.44			

^{ABC} Las medias con diferentes letras presentan diferencias significativas entre estaciones de muestreo ($P < 0.05$). ^{xyz} Las medias con diferentes letras presentan diferencias significativas entre estaciones de plantas ($P < 0.05$). D.E. desviación estándar.[1]Unidades expresadas como logaritmo de las unidades formadoras de colonia por mililitro de enjuague (Log_{10} UFC/mL).

Se determinó que no hubo diferencia significativa entre las estaciones de re-colgado y post-evisceración en Honduras, sí existió diferencia significativa en la estación de post-enfriamiento. En el caso de la planta evaluada en Estados Unidos, se determinó diferencia significativa entre estaciones a lo largo de la línea de procesamiento. En la línea de procesamiento de la planta de Honduras se logró una reducción logarítmica de 2.37 Log UFC/mL, mientras que en Estados Unidos fue de 4.93 Log UFC/mL. Al comparar las medias de los recuentos en las estaciones entre plantas se determinó que sí se encontró diferencia entre las estaciones de re-colgado y post-enfriamiento entre países. Se presentaron medias de 4.22 ± 0.57 y 5.20 ± 1.03 Log UFC/mL para Honduras y Estados Unidos en la estación de re-colgado. Zhang y colabores indicaron obtuvieron recuentos en esta etapa de 2.12 ± 0.55 Log UFC/mL (Zhang *et al*.2011).

No se encontró diferencia significativa entre los recuentos de coliformes totales de la estación de post-evisceración con medias de 4.15 ± 0.89 y 4.38 ± 0.84 Log UFC/mL para Estados Unidos y Honduras respectivamente. Por otro lado, en la estación de post-enfriamiento se encontraron recuentos con medias entre 1.85 ± 0.41 y 0.27 ± 0.55 Log

UFC/mL respectivamente. Los resultados obtenidos para los niveles de coliformes luego de la etapa de enfriamiento en ambas plantas muestran recuentos similares a los vistos por Zhang y colaboradores con una media de 0.75 ± 0.65 Log UFC/mL (Zhang *et al.*2011).

El cuadro 8 reporta la distribución de muestras cuantificadas positivas para coliformes totales en Estados Unidos. En la estación de re-colgado del 49.02% de las muestras cuantificables se obtuvieron recuentos entre 10,000-1,000,000 UFC/mL (4-6 Log UFC/mL). Ninguna de las muestras estuvo por debajo del límite de cuantificación en las estaciones de re-colgado y post-evisceración.

Cuadro 8. Distribución de coliformes totales en pollos enteros en Estados Unidos.

Nivel de UFC/mL de enjuagues por estación del proceso	**Número de muestras positivas**	**(%)**	**(%) acumulativo**
Re-colgado			
LOD<1000	1	01.9	01.9
1,001-10,000	9	17.6	19.6
10,001-100,000	11	21.5	41.1
100,001-1,000,000	14	27.4	68.6
>1,000,000	15	29.4	98.0
TNTC	1	01.9	100.0
Post-evisceración			
LOD<1000	6	11.7	11.7
1,001-10,000	15	29.4	41.1
10,001-100,000	18	35.2	76.4
100,001-1,000,000	12	23.5	100.0
>1,000,000	0	00.0	100.0
Post-enfriamiento			
LOD<1	37	72.5	72.5
1-100	14	27.4	100.0
>101	0	00.0	100.0

LOD, Límite de detección.
TNTC, muy numeroso para contar (>250,000,000).

Luego de la evisceración, se reportó una distribución entre 10,000-1,000,000 del 58.82% mostrando un aumento de la cantidad porcentual de muestras positivas en el mismo rango al compararse ambas estaciones (Cuadro 8). En la última estación hubo una reducción de los niveles de coliformes totales, teniendo Estados Unidos 27.45% de las muestras de 1-100 UFC/mL demostrando que al final del proceso los pollos no superan el límite máximo permitido (NACMCF 2014).

El cuadro 9 reporta la distribución de muestras cuantificadas positivas para coliformes totales en Honduras. El 54.90% de las muestras evaluadas en re-colgado obtuvieron recuentos entre 10,000-1,000,000 UFC/mL (4-6 Log UFC/mL). Ninguna de las muestras

estuvo por debajo del límite de cuantificación específico para cada estación. En la estación de post-evisceración el 98.03% de las muestras estuvieron por encima del límite de detección. En el caso de la estación de post-enfriamiento todas las muestras estuvieron por encima del límite cuantificación además de que solo una muestra estuvo por encima del límite máximo permitido.

Cuadro 9. Distribución de coliformes totales en pollos enteros en Honduras.

Nivel de UFC/mL de enjuagues por estación del proceso	Número de muestras positivas	(%)	(%) acumulativo
Re-colgado			
LOD<1,000	0	00.0	00.0
1,001-10,000	22	43.1	43.1
10,001-100,000	26	50.9	94.1
100,001-1,000,000	2	03.9	98.0
>1,000,000	1	01.9	100.0
Post-evisceración			
LOD<1,000	1	01.9	01.9
1,001-10,000	14	27.4	29.4
10,001-100,000	31	60.7	90.2
100,001-1,000,000	2	03.9	94.1
>1,000,000	3	05.8	100.0
Post-enfriamiento			
LOD<1	0	00.0	00.0
1-100	35	68.6	68.6
101-1000	15	29.4	98.0
>1,000,000	1	01.9	100.0

LOD, Límite de detección.
TNTC, muy numeroso para contar (>250,000,000).

El límite máximo permitido para coliformes en productos como pollo crudo es de 3 Log UFC/mL. Ninguna de las plantas superó este límite al ser evaluadas en la estación de post-enfriamiento (<1 UFC/mL) (Cuadro 8 y 9) considerada como punto crítico del proceso (NACMCF 2014).

El cuadro 10 muestra los niveles de *Escherichia coli* genérica a lo largo de la línea de procesamiento de pollos. Uno de los ensayos más utilizados para evaluar si se realiza una adecuada sanitización es medir los niveles de *Escherichia coli* porque al ser una bacteria enterica tiene una potencial exposición a materia fecal de los animales. (Buchanan 2000). Para la planta de Estados Unidos se determinó diferencia significativa entre estaciones muestreadas, mostrando que, de 51 muestras evaluadas, se obtuvieron porcentajes de muestras cuantificables positivas para *Escherichia coli* genérica de 98.04% para las estaciones de re-colgado y post-evisceración, además, de un 21.57% en la estación de post-

enfriamiento. En el caso de la planta evaluada en Honduras 100% de las muestras de cada estación fueron cuantificadas como positivas para *Escherichia coli* genérica.

De acuerdo a la separación de medias por LSMeans, en la planta de los Estados Unidos se presentó diferencia significativa (P > 0.05) entre estaciones a lo largo de la línea de procesamiento. En el caso de Honduras no se presentó diferencia significativa entre las estaciones de re-colgado y post-evisceración), solo hubo diferencia en la estación de post-enfriamiento.

Cuadro 10. Comparación de recuentos de muestras cuantificables positivas para *Escherichia coli* en Estados Unidos y Honduras (Log10 UFC/mL).

	Estados Unidos		Honduras	
Estaciones de muestreo	**n**	**[1]Media±D.E**	**n**	**[1]Media±D.E**
Re-colgado	50	$5.01 \pm 1.01^{A\,x}$	51	$3.85 \pm 0.56^{A\,y}$
Post-evisceración	50	$3.88 \pm 0.34^{B\,x}$	51	$4.01 \pm 0.55^{A\,x}$
Post-enfriamiento	11	$0.15 \pm 0.87^{C\,x}$	51	$1.65 \pm 0.50^{B\,y}$
Coeficiente de variación (%)	21.85			

^{ABC} Las medias con diferentes letras presentan diferencias significativas entre estaciones de muestreo (P < 0.05). ^{xyz} Las medias con diferentes letras presentan diferencias significativas entre estaciones de plantas (P < 0.05). D.E. desviación estándar.[1]Unidades expresadas como logaritmo de las unidades formadoras de colonia por mililitro de enjuague (Log_{10} UFC/mL).

La reducción logarítmica desde la primera etapa de procesamiento evaluada hasta la última de los niveles de *Escherichia coli* genérica en la planta Estados Unidos de aproximadamente 4.86 Log UFC/mL mientras que en Honduras se redujo en 2.20 Log UFC/mL. Al comparar estaciones entre países se encontró diferencia significativa para los niveles de *Escherichia coli* genérica en la estación de re-colgado en Estados Unidos con una media de 5.01 ± 1.01 Log UFC/mL y Honduras 3.85 ± 0.56 Log UFC/mL. En estudios realizados en los Estados Unidos entre 2004 y 2005 los niveles de *E. coli* para la estación de re-colgado tuvieron una media de 3.3 Log UFC/mL, resultados similares a los obtenidos en Honduras en la planta evaluada (Altekruse 2009).

Los resultados obtenidos en los recuentos en la planta de Honduras a la vez coinciden con los obtenidos en investigaciones previas donde reportaron recuentos de 3.08 Log UFC/mL en una etapa posterior al desplumado como lo es el re-colgado (Ramírez *et al.* 2017). En el caso de la estación de post-evisceración no se encontraron diferencias significativas con medias de 3.88 ± 0.34 y 4.01 ± 0.55 Log UFC/mL para Estados Unidos y Honduras respectivamente. En la estación de post-enfriamiento se reportaron medias de 0.15 ± 0.87 y 1.65 ± 0.50 Log UFC/mL para Estados Unidos y Honduras respectivamente. En investigaciones previas se obtuvieron valores similares a los reportados en Honduras con

medias para *Escherichia coli* genérica de 1.7 ± 0.20 y 1.65 Log UFC/mL (Northcutt *et al.* 2006; Ramírez *et al.* 2017).

En el cuadro 11 se reporta la distribución de muestras cuantificadas positivas para *Escherichia coli* genérica en Estados Unidos. En la estación de Re-colgado el 96.08% de las muestras estuvieron por encima del límite de detección. Luego de la evisceración, se reportó una distribución de un 82.35% de las muestras por encima del límite de detección. En la última estación (post-enfriamiento) se nota una reducción de los niveles de *Escherichia coli* genérica donde el 78.43% de las muestras estuvieron por debajo del límite de detección (<1 UFC/mL).

Cuadro 11. Distribución de *Escherichia coli* en pollos enteros en Estados Unidos.

Nivel de UFC/mL de enjuagues por estación del proceso	**Número de muestras positivas**	**(%)**	**(%) acumulativo**
Re-colgado			
LOD<1,000	1	01.9	01.9
1,001-10,000	9	17.6	19.6
10,001-100,000	13	25.4	45.1
100,001-1,000,000	16	31.3	76.4
>1,000,000	11	21.5	98.0
TNTC	1	01.9	100.0
Post-evisceración			
LOD<1,000	9	17.6	17.6
1,001-10,000	18	35.2	52.9
10,001-100,000	19	37.2	90.1
100,001-1,000,000	5	09.8	100.0
>1,000,000	0	00.0	100.0
Post-enfriamiento			
LOD<1	40	78.4	78.4
1-100	11	21.5	100.0

LOD, Límite de detección.
TNTC, muy numeroso para contar (>250,000,000).

En el cuadro 12 se muestra la distribución de muestras cuantificadas positivas para *Escherichia coli* genérica en Honduras. En la estación de Re-colgado el 84.31% de las muestras estuvieron por encima del límite de detección. Luego de la evisceración, se reportó una distribución de un 92.16% de las muestras por encima del límite de detección y a su vez superando el límite máximo permitido. En la estación de Post-enfriamiento los niveles de *Escherichia coli* genérica mostraron que el 100% de las muestras estuvieron por encima del límite de detección (<1 UFC/mL).

Cuadro 12. Distribución de *Escherichia coli* en pollos enteros en Honduras.

Nivel de UFC/mL de enjuagues por estación del proceso	Número de muestras positivas	(%)	(%) acumulativo
Re-colgado			
LOD<1,000	8	15.6	15.6
1,001-10,000	21	41.1	56.8
10,001-100,000	19	37.2	94.1
100,001-1,000,000	3	05.8	100.0
>1,000,000	0	00.0	100.0
Post-evisceración			
LOD<1,000	4	07.8	07.8
1,001-10,000	22	43.1	50.9
10,001-100,000	24	47.0	98.0
100,001-1,000,000	1	01.9	100.0
>1,000,000	0	00.0	100.0
Post-enfriamiento			
LOD<1	0	00.0	00.0
1-100	39	76.4	76.4
101-1,000	11	21.5	98.0
>1,000	1	01.9	100.0

LOD, Límite de detección.
TNTC, muy numeroso para contar (>250,000,000).

Al evaluar el comportamiento de los cuatro grupos indicadores al pasar de la etapa de re-colgado a Post-evisceración se determinó que en Estados Unidos hubo reducción en los niveles, sin embargo, para Honduras no se encontró diferencia significativa entre ambas estaciones. Este comportamiento va ligado al tipo de metodología utilizada para la evisceración además del tipo y concentración de intervenciones químicas. En la etapa de evisceración se han desarrollado tecnologías para poder remover el paquete completo de vísceras sin comprometer la calidad microbiológica y visual de la carcasa antes de la inspección en línea, además de que en esta etapa la mayoría de los procesadores aprovecha para realizar intervenciones químicas por considerarse como una de las más importantes en términos de contaminación cruzada (Russell y Walker 1997).

En este estudio se trabajó con los grupos indicadores más importantes en la industria alimentaria, las cuales son definidas como un grupo de microorganismos que muestran, en el caso de alimentos, si hubo exposición a condiciones que pudieron incrementar el riesgo decontaminación por patógenos. El poder identificar bacterias indicadoras puede ser aplicado para la detección de un patógeno en específico o para monitorear la eficacia de las intervenciones químicas en el control microbiano (NACMCF 2010).
Varios estudios han establecido que la reducción microbiológica se debe principalmente a las intervenciones que forman parte del sistema HACCP (Análisis de Peligros y puntos Críticos de Control) de la planta complementado con los programas prerrequisitos como Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y los POES (Procesos Operativos Estandarizados

de Sanitización). A la hora de establecer el sistema HACCP todos los establecimientos deben de tener soporte científico que asegure que sus intervenciones son efectivas en sus puntos críticos de control (FSIS 2015).

Las bacterias indicadoras juegan un rol importante en la evaluación de la calidad e inocuidad en la industria de los alimentos, además, poder identificar cuál de todas es la apropiada para tomar decisiones puede ser de ayuda para determinar la distribución microbiológica de patógenos (Kim *et al*. 2017). Sin embargo, un establecimiento no puede confiar solo en los datos de reducción de bacterias indicadoras como una fuente de soporte científico a su plan HACCP para establecer que hay un control de bacterias patógenas. Para esto es necesario establecer la relación entre los niveles de patógenos y bacterias indicadoras ya sea evaluando en un mismo estudio su correlación o por medio de estudios paralelos siguiendo las mismas condiciones. De esta manera, si se encuentra una reducción similar y consistente se podría utilizar la bacteria indicadora (FSIS 2015).

La implementación de la metodología utilizada en este estudio ayuda a los procesadores a identificar aquellas áreas donde las intervenciones para el control microbiológico deberían mejorar para garantizar la inocuidad del producto. Estas líneas base dan una idea de cómo fue el comportamiento microbiológico de estas dos plantas en específico, sin embargo, existen factores de variación que van a influenciar este comportamiento. Autores sugieren que la contaminación en el proceso va directamente relacionada con aquellos factores que modifican la microbiota interna de los pollos, tales como la ubicación geográfica, edad, tipo de sistema de producción, higiene, alimentación y el tipo de medicación (Kers *et al.* 2018).

Según los resultados obtenidos para los cuatro grupos indicadores se presentó diferencia entre plantas en la estación de re-colgado. Al evaluar esta variación hay que considerar que esta es una etapa posterior al escaldado que es considerada como una de las más importantes para la contaminación cruzada en el proceso. Una adecuada limpieza y desinfección acompañada con adecuada intervención química son claves para controlar la carga microbiológica, sin embargo, el tipo de tecnología usada para el escaldado y posterior desplumado además de las concentraciones utilizadas van a ejercer influencia en los resultados vistos para cada planta (Fries 2002).

Control estadísico de proceso en la estación de Post-enfriamiento.

En el comportamiento microbiológico de los cuatro grupos indicadores evaluados se notó una mayor reducción luego de la estación C o la etapa de post-chiller. Esta etapa es considerada como un punto crítico de control para la reducción de patógenos y bacterias deterioradoras (Kim *et al*. 2017).

En estudios previos se ha examinado el efecto del post-chiller en los niveles microbiológicos de la carne de pollo. Se ha determinado que debido a intervenciones químicas como el uso de concentraciones de cloro en los tanques la riqueza microbiológica en términos de diversidad disminuye considerablemente (Rothrock *et al.*2016). La estación de enfriamiento es considerada en la industria de procesamiento de pollos como un punto crítico de control en los sistemas HACCP debido a que son principalmente usados para bajar la temperatura de la carcasa e inhibir la multiplicación microbiológica. De acuerdo a

la regulación en la citación § 381.66 del Código Federal de los Estados Unidos todos los pollos una vez terminado el procesamiento deben de pasar por un enfriador para bajar la temperatura interna a < 4.4 °C (FR 1996).

Basado en el patrón de distribución de los puntos, la figura 2 muestra los valores obtenidos para bacterias mesófilas aerobias en las plantas de los Estados Unidos Honduras y que fueron evaluadas. En Estados Unidos el primer patrón observado es que las distribuciones de los puntos tienden a estar cerca de los límites y la mayoría fuera de los límites de control por lo que se determina que este proceso está fuera de control debido al patrón de "amplio desplazamiento" de los puntos. En el caso de Honduras la periodicidad mostrada al alternarse 13 o más puntos consecutivos arriba y abajo de la línea central nos indica que los ciclos son muy recurrentes.

.

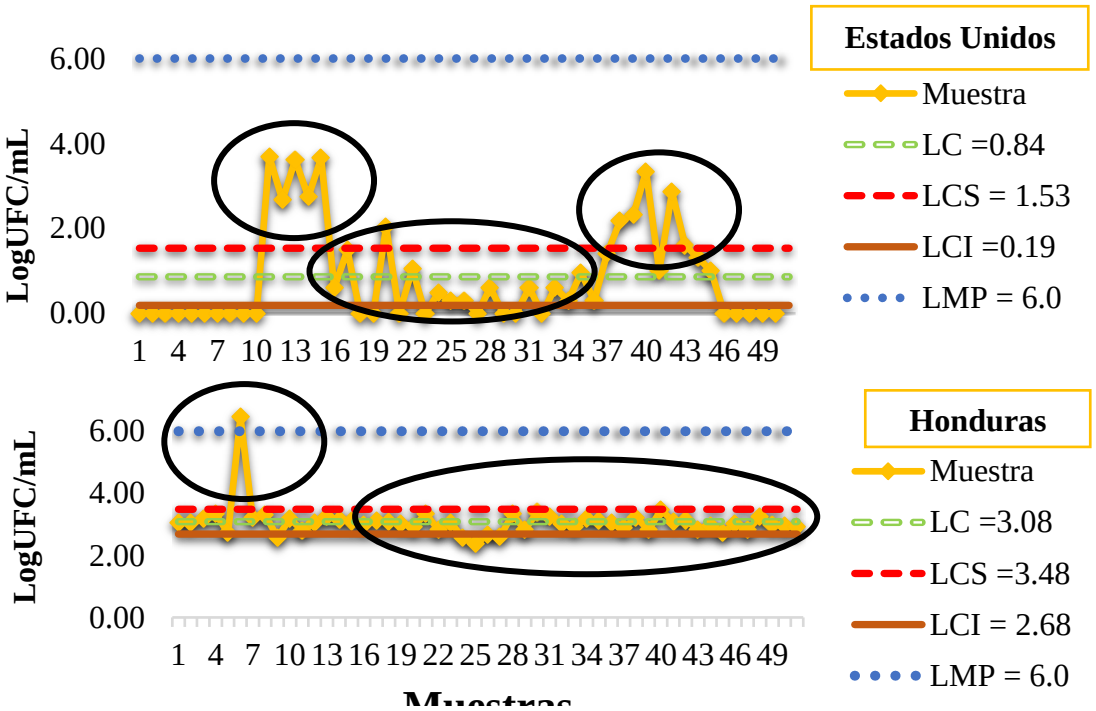


Figura 2.Gráfico de control $\bar{x}$ para bacterias mesófilas aerobias en la estación de post-enfriamiento en Estados Unidos y Honduras

LC Límite de control central ($\bar{x}$).
LCS Límite de control superior.
LCI Límite de control inferior.
LMP Límite máximo permitido por la regulación

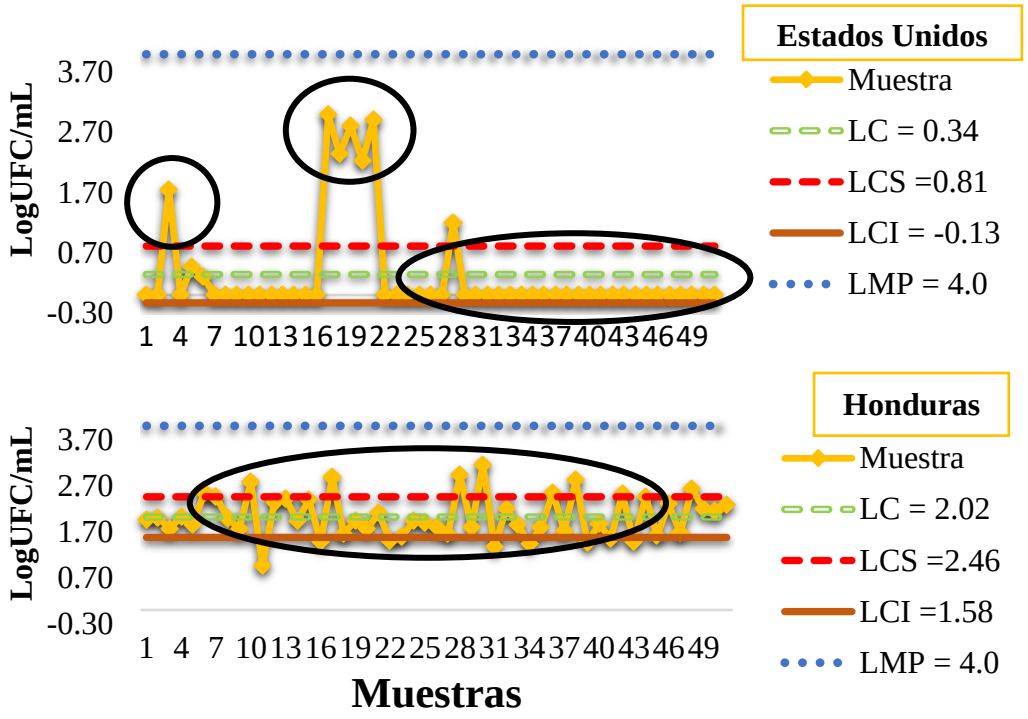


Figura 3. Gráfico de control $\bar{x}$ para *Enterobacteriaceae* en la estación de post-enfriamiento en Estados Unidos y Honduras

LC Límite de control central ($\bar{x}$).
LCS Límite de control superior.
LCI Límite de control inferior.
LMP Límite máximo permitido por la regulación.

Al considerarse una etapa de importancia microbiológica es necesario determinar la estabilidad del proceso por medio de los recuentos microbianos que fueron obtenidos luego del chiller. Utilizando cartas de control $\bar{x}$ basadas un concepto de variabilidad que puede deberse a causas naturales, anormales o especiales que influyen en el proceso. El principal reto al establecer control estadístico de proceso es poder identificar variabilidad debido a causas anormales con el fin de minimizar la variabilidad y mejorar el proceso (Noskievičová 2013).

En las figuras 3,4 y 5 se muestran los gráficos de control para *Enterobacteriaceae*, coliformes y *Escherichia coli* respectivamente y muestran los mismos patrones de "amplio desplazamiento" y "periodicidad o estratificación". Debido a esto se determina que hay una alta variabilidad en el proceso por lo que está fuera de control (Jarvis 2008). En las cartas de control $\bar{x}$ la variabilidad va a estar determinada por la distribución de puntos de los valores evaluados en relación a límites de control. La línea central en los gráficos representa el promedio de las características evaluadas.

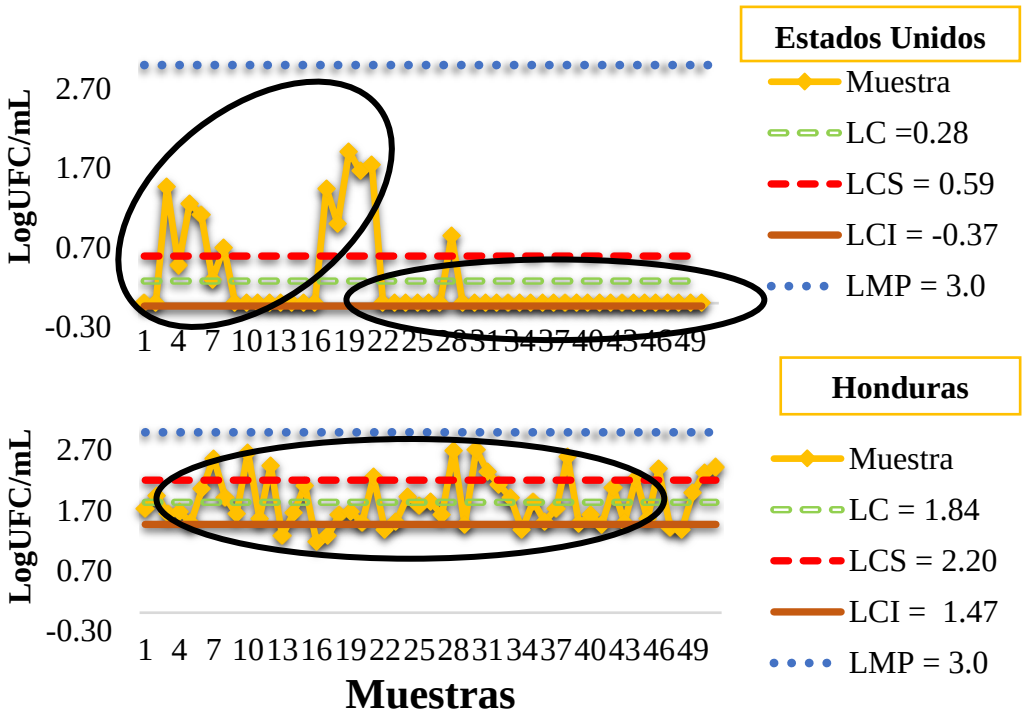


Figura 4.Gráfico de control $\bar{x}$ para coliformes totales en la estación de post-enfriamiento en Estados Unidos y Honduras.

LC Límite de control central ($\bar{x}$).
LCS Límite de control superior.
LCI Límite de control inferior.
LMP Límite máximo permitido por la regulación.

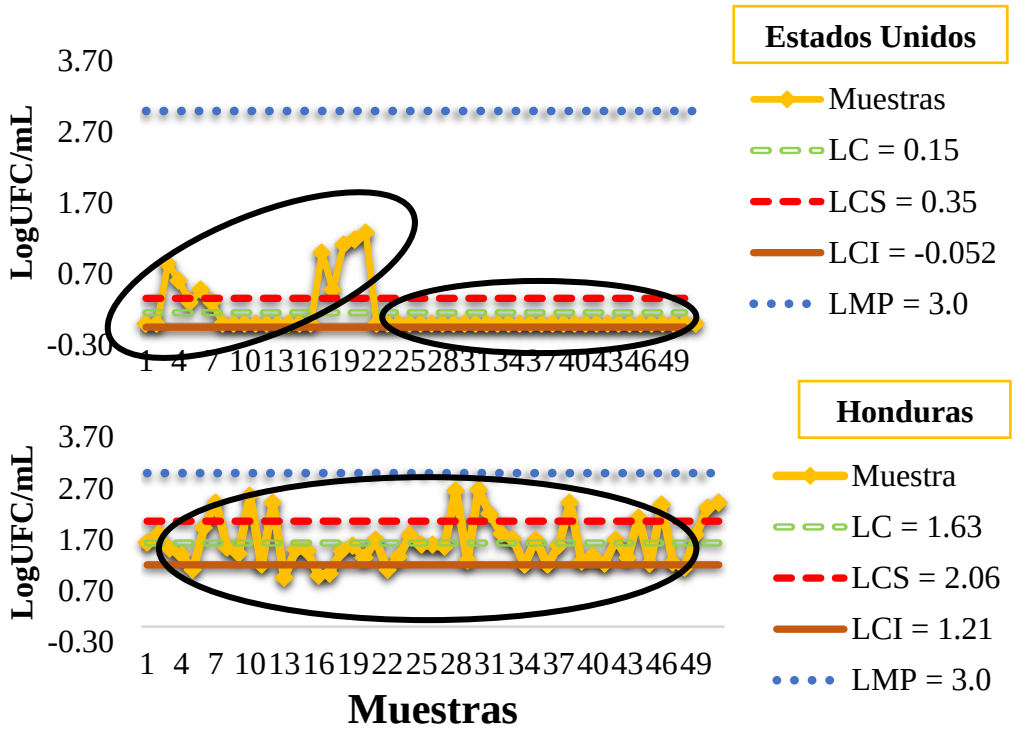


Figura 5.Gráfico de control $\bar{x}$ para *Escherichia coli* en la estación de post-enfriamiento en Estados Unidos y Honduras

LC Límite de control central ($\bar{x}$).
LCS Límite de control superior.
LCI Límite de control inferior.
LMP Límite máximo permitido por la regulación

A pesar de la variabilidad en el proceso, si se toma en cuenta el cumplimiento con los límites máximos permitidos (LMP) por la regulación se determinó que ambas plantas cumplen con este requerimiento respectivo para cada bacteria. En este tipo de productos es de mayor importancia considerar que los niveles de grupos indicares sean menores que el límite sin considerar la estabilidad del proceso (NACMCF 2014).

4. CONCLUSIONES

- La creación de perfiles de microorganismos indicadores provee información a la industria para seleccionar medidas de control adecuadas para asegurar la inocuidad de productos como pollo crudo.

- A través de la identificación de perfiles de los cuatro grupos indicadores cada planta puede tomar acciones en favor de la gestión de riegos identificando objetivos de desempeño en la estación de post-enfriamiento donde se identificó mayor variabilidad.

- Patrones identificados al evaluarse el control estadístico en el proceso de post-enfriamiento indican que el proceso en ambas plantas debe de ser ajustado, sin embargo, sí cumplen con los límites máximos permitidos.

5. RECOMENDACIONES

- Evaluar el efecto de las intervenciones químicas que permiten la reducción de microorganismos a lo largo de la línea de procesamiento.

- Determinar la correlación entre en los niveles de bacterias mesófilas aerobias, Enterobacteriaceae, coliformes y Escherichia coli con bacterias patógenas de interés en la industria de procesamiento de pollo

6. LITERATURA CITADA

Altekruse SF, Berrang ME, Marks H, Patel B, Shaw WK, Saini P, Bennett PA, Bailey JS. 2009. Enumeration of *Escherichia coli* cells on chicken carcasses as a potential measure of microbial process control in a random selection of slaughter establishments in the United States. Appl Environ Microbiol. 75(11):3522–3527. eng. DOI:10.1128/AEM.02685-08

Bohaychuk V, Checkley S, Gensler G, Romero P. 2009. Microbiological baseline study of poultry slaughtered in provincially inspected abattoirs in Alberta, Canada. The Canadian Veterinary Journal. La revue veterinaire canadienne 50(2):173–178. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2629421/

Buchanan. 2000. Acquisition of Microbiological Data to Enhance Food Safety. J Food Prot. 63(6):832–838. DOI:10.4315/0362-028X-63.6.832.

Capita R, Alonso-Calleja C., García-Arias MT, Moreno B, Del Camino García-Fernández M. 2002. Methods to Detect the Occurrence of Various Indicator Bacteria on the Surface of Retail Poultry in Spain. Journal of Food Science. 67(2):765–771. https://onlinelibrary.wiley.com/DOI/epdf/10.1111/j.1365-2621.2002.tb10673.x.

Chowdhury A. 2019. *E. coli* Petrifilm™ - AOAC 991.14 and AOAC 998.08; [consultado el 17 de ago. de 2019]. http://www.agriculture.gov.au/SiteCollectionDocuments/aqis/exporting/meat/elmer3/approved-methods-manual/Generic-E-coli-E-coli-Petrifilm-AOAC-998.08.pdf.

De Vries, A, & Reneau, J. K. (2010). Application of statistical process control charts to monitor changes in animal production systems1. Journal of Animal Science, 88(suppl_13), E11–E24. DOI:10.2527/jas.2009-2622

FAOSTAT. 2019. Livestock Primary: United States and Honduras Producing Animal/Slaughtered and Production Quantity 2016-2017. United States: Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://www.fao.org/faostat/en/.

FR, Federal Register. 2014. Modernization of Poultry Slaughter Inspection, Final Rule: FR. [EE.UU.]: Federal Register. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/00ffa106-f373-437a-9cf3-6417f289bfc2/20110012.pdf?MOD=AJPERES.pdf?MOD=AJPERES.

FR, Federal Register. 1996. Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems; Final Rule: FR. [EE.UU.]: Federal Register. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/e113b15a-837c-46af-8303-73f7c11fb666/93-016F.pdf?MOD=AJPERE.

Fries, R. (2002). Reducing Salmonella transfer during industrial poultry meat production. World's Poultry Science Journal, 58(04), 527–540. Doi: 10.1079/wps20020 FSIS, Food Safety and Inspection System. 2015.

FSIS Compliance Guideline: Modernization of Poultry Slaughter Inspection Microbiological Sampling of Raw Poultry; [consultado el 17 de ago. de 2019]. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/a18d541e-77d2-40cf-a045-b2d2d13b070d/Microbiological-Testing-Raw-Poultry.pdf?MOD=AJPERES.

FSIS, Food Safety, and Inspection System. 2015. FSIS Compliance Guideline: HACCP Systems Validation; [consultado el 16 de sep. de 2019]. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/a70bb780-e1ff-4a35-9a9a-3fb40c8fe584/HACCP_Systems_Validation.pdf?MOD=AJPERES

FSIS, Food Safety, and Inspection System. 2015. FSIS Compliance Guideline: For Controlling Salmonella y Campylobacter in Raw Poultry; [consultado el 16 de sep. de 2019]. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/a70bb780-e1ff-4a35-9a9a-3fb40c8fe584/HACCP_Systems_Validation.pdf?MOD=AJPERES

FSIS, Food Safety and Inspection System. 2013. FSIS Directive 10250.1 Salmonella and Campylobacter Verification Program for Raw Meat and Poultry Products; [consultado el 17 de ago. de 2019]. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/ebf83112-4c3b-4650-8396-24cc8d38bf6c/10250.1.pdf?MOD=AJPERES

FSIS, Food Safety and Inspection System. 2012. FSIS Nationwide Raw Chicken Parts Microbiological Baseline Data Collection Program; [consultado el 17 de ago. de 2019]. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/501901e5-9ac7-4f94-9a72-21c7ac31d8b9/Baseline_Data_Chicken_Parts_Study_ Design.pdf?MOD=AJPERES.

FSIS, Food Safety and Inspection System. 2008. The Nationwide Microbiological Baseline Data Collection Program: Young Chicken Survey July 2007– June 2008. United States: USDA, United States Department of Agriculture. https://www.fsis.usda.gov /shared/PDF/Baseline_Data_Young_Chicken_2007-2008.pdf?redirecthttp=true

Ghafir, Y, China, B, Dierick, K, De Zutter, L, & Daube, G. (2008). Hygiene Indicator Microorganisms for Selected Pathogens on Beef, Pork, and Poultry Meats in Belgium. Journal of Food Protection, 71(1), 35–45. DOI:10.4315/0362-028x-71.1.35.

Handley John A, Si Park Hong, Kim Sun Ae, and Ricke Steven C. 2018. Microbiome Profiles of Commercial Broilers Through Evisceration and Immersion Chilling During Poultry Slaughter and the Identification of Potential Indicator Microorganisms. Front Microbiol. 9 (345):1–11. DOI:10.3389/fmicb.2018.00345

Jarvis, B. (2008). Statistical Process Control Using Microbiological Data. Statistical Aspects of the Microbiological Examination of Foods, 225–258. DOI:10.1016/b978-0-444-53039-4.00012-1

John A. Painter, Robert M. Hoekstra, Tracy Ayers, Robert V. Tauxe, Christopher R. Braden, Frederick J. Angulo, and Patricia M. Griffin. 2013. Attribution of Foodborne Illnesses, Hospitalizations, and Deaths to Food Commodities by using Outbreak Data, United States, 1998–2008. United States: Center for Disease Control and Prevention. https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/19/3/11-1866-t1

Kers, J. G, Velkers, F. C, Fischer, E. A. J, Hermes, G. D. A., Stegeman, J. A, & Smidt, H. (2018). Host and Environmental Factors Affecting the Intestinal Microbiota in Chickens. Frontiers in Microbiology, 9. doi:10.3389/fmicb.2018.00235

Kim S, Park S, Lee S, Owens CM, & Ricke SC. 2017. Assessment of Chicken Carcass Microbiome Responses During Processing in the Presence of Commercial Antimicrobials Using a Next-Generation Sequencing Approach. Scientific Reports. 7(1):1–14. file://D:/OneDrive%20-%20Zamorano/Respaldo%20(19260)/Downloads/Articulo%201%20(1).pdf.

Mead G, editor. 2000. HACCP in the meat industry: HACCP in primary processing: poultry. Abington Hall, Abington: Woodhead. 123-153. ISBN: 1 85573 395 1.

NACMCF, National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. 2010. Response to Questions Posed by the Food Safety and Inspection Service Regarding Determination of the Most Appropriate Technologies for the Food Safety and Inspection Service To Adopt in Performing Routine and Baseline Microbiological Analyses3. J Food Prot. 73(6):1160–1200. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/86eb081e-956b-4eb1-b330-323108f2e8d9/NACMCF_JFP_09-494.pdf?MOD=AJPERES

NACMCF, National Advisory Committee on Microbiological Criteria For Foods. 2014. NACMCF Response to Questions Posed by the DoD Regarding Microbiological Criteria as Indicators of Process Control or Unsanitary Conditions. [sin lugar]. 170 p. Informe no. 45; [consultado el 12 de sep. de 2019]. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/7fb1a71f-27fa-4b04-a065-82f65e21cb03/NACMCF-Process-Control-111714.pdf?MOD=AJPERES

Northcutt JK, Cason JA, Smith DP, Buhr RJ, Fletcher DL. 2006. Broiler carcass bacterial counts after immersion chilling using either a low or high volume of water. Poult Sci. 85(10):1802–1806. eng. DOI:10.1093/ps/85.10.1802.

Northcutt, J. K., M. E. Berrang, J. A. Dickens, D. L. Fletcher, and N. A. Cox. 2003. Effect of broiler age, feed withdrawal, and transportation on levels of coliforms, *Campylobacter*, *Escherichia coli*, and *Salmonella* on carcasses before and after immersion chilling. Poult. Sci. 82:169–173.

Noskievičová, D. (2013).Complex Control Chart Interpretation. International Journal of Engineering Business Management, 5, 13. doi:10.5772/56441

Pascual M.R, Calderón V. 2000. Microbiología alimentaria: Metodología analítica para alimentos y bebidas. 2ª ed. Madrid: Díaz de Santos. ISBN: 84-7978-424-5.

Ramírez-Hernández, A, Varón-García, A, & Sánchez-Plata, M. X. (2017). Microbiological Profile of Three Commercial Poultry Processing Plants in Colombia. Journal of Food Protection, 80(12), 1980–1986. doi:10.4315/0362-028x.jfp-17-028

Ray B. 2004. Fundamental food microbiology. 3rd ed. Boca Raton [Fla.]: CRC Press. 608 p. ISBN: 0-8493-1610-3.

Rothrock MJ, Locatelli A, Glenn TC, Thomas JC, Caudill AC, Kiepper BH, & Hiett K L.(2016). Assessing the microbiomes of scalder and chiller tank waters throughout a typical commercial poultry-processing day. Poultry Science, 95(10), 2372–2382. DOI:10.3382/ps/pew234

Russell S & Walker J. (1997). The effect of evisceration on visible contamination and the microbiological profile of fresh broiler chicken carcasses using the Nu-Tech Evisceration System or the conventional Streamlined Inspection System. Poultry Science, 76(5), 780–784. DOI:10.1093/ps/76.5.780

Saini PK, Marks HM, Dreyfuss MS, Evans P, Cook LV, Dessai U. 2011. Indicator organisms in meat and poultry slaughter operations: their potential use in process control and the role of emerging technologies. J Food Prot. 74(8):1387–1394. eng. DOI:10.4315/0362-028X.JFP-10-433.

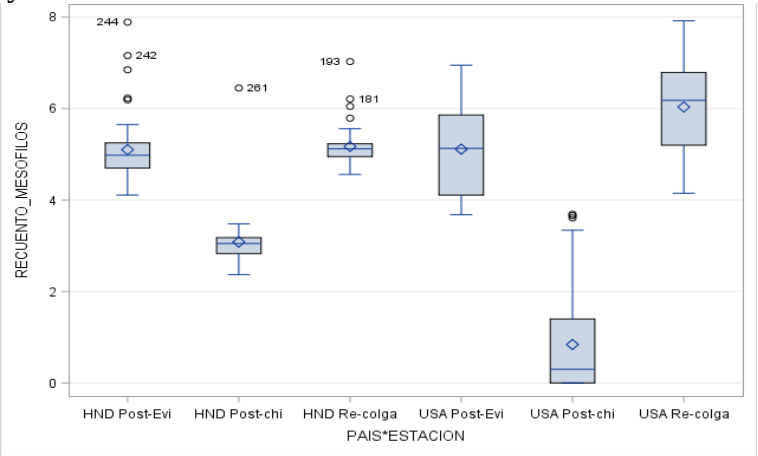
USDA, United States Department of Agriculture. 2015. Quantitative Analysis of Bacteria in Foods as Sanitary Indicators: Laboratory Guidebook Notice of Change. United States: United States Department of Agriculture. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/f2162091-af72-4888-997b-718d6592bcc9/MLG-3.pdf?MOD= AJPERES

USDA, United States Department of Agriculture. (1996). Federal Register 9 CFR Part 304, et al. Pathogen Reduction; Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems; Final Rule, Federal Register. https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/e113b15a-837c-46af-8303-73f7c1 1fb666/93-016F.pdf?MOD=AJPERES

Zhang L, Jeong JY, Janardhanan KK, Ryser ET & Kang I. (2011). Microbiological Quality of Water Immersion–Chilled and Air-Chilled Broilers. Journal of Food Protection, 74(9), 1531–1535. DOI:10.4315/0362-028x.jfp-11-032

7. ANEXOS

Anexo 1. Distribución de bacterias mesófilas aerobias en plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras.



Anexo 2. Análisis de varianza (ANDEVA) para bacterias mesófilas aerobias evaluadas en plantas de procesamiento de pollo de Estados Unidos y Honduras.

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: RECUENTO_MESOFILOS

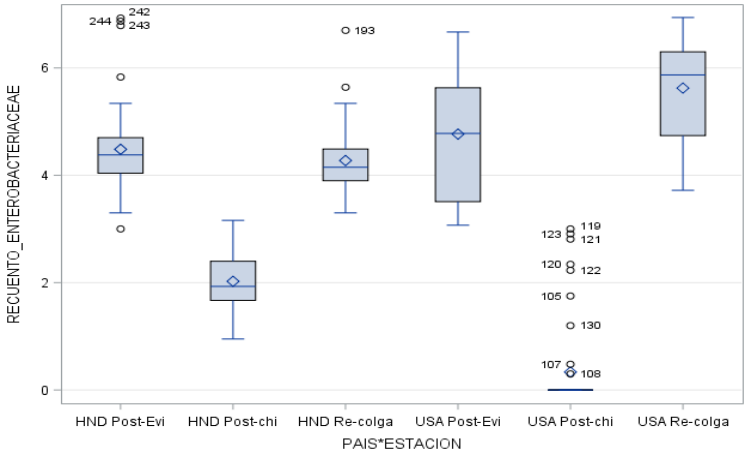
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	928.351462	185.670292	269.44	<.0001
Error	289	199.150711	0.689103		
Corrected Total	294	1127.502173			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	RECUENTO_MESOFILOS Mean
0.823370	19.83525	0.830122	4.185085

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PAIS	1	22.6605062	22.6605062	32.88	<.0001
ESTACION	2	776.0362115	388.0181057	563.08	<.0001
PAIS*ESTACION	2	129.6547444	64.8273722	94.08	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PAIS	1	15.2067050	15.2067050	22.07	<.0001
ESTACION	2	783.4719375	391.7359687	568.47	<.0001
PAIS*ESTACION	2	129.6547444	64.8273722	94.08	<.0001

Anexo 3. Distribución de *Enterobacteriaceae* en plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras.



Anexo 4. Análisis de varianza (ANDEVA) para *Enterobacteriaceae* evaluadas en plantas de procesamiento de pollo de Estados Unidos y Honduras

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: RECUENTO_ENTEROBACTERIACEAE

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	1008.091893	201.618379	305.69	<.0001
Error	299	197.207615	0.659557		
Corrected Total	304	1205.299508			

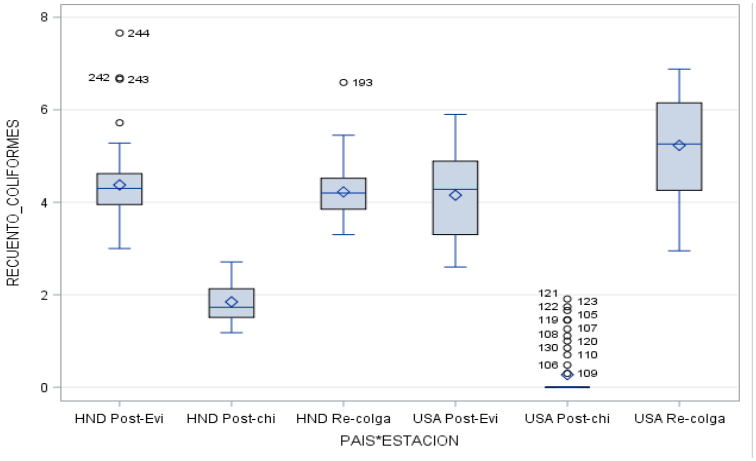
R-Square	Coeff Var	Root MSE	RECUENTO_ENTEROBACTERIACEAE Mean
0.836383	22.69666	0.812131	3.578197

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PAIS	1	0.0810462	0.0810462	0.12	0.7262
ESTACION	2	887.0576785	443.5288393	672.46	<.0001
PAIS*ESTACION	2	120.9531688	60.4765844	91.69	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PAIS	1	0.0278667	0.0278667	0.04	0.8373
ESTACION	2	888.9236332	444.4618166	673.88	<.0001
PAIS*ESTACION	2	120.9531688	60.4765844	91.69	<.0001

.

Anexo 5. Distribución de coliformes en plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras.



Anexo 6. Análisis de varianza (ANDEVA) para coliformes totales evaluadas en plantas de procesamiento de pollo de Estados Unidos y Honduras.

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: RECUENTO_COLIFORMES

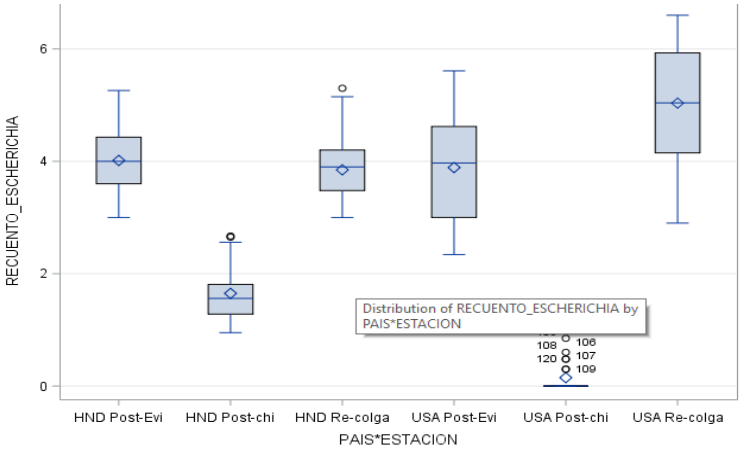
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	903.884994	180.776999	319.71	<.0001
Error	300	169.634612	0.565449		
Corrected Total	305	1073.519606			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	RECUENTO_COLIFORMES Mean
0.841983	22.44294	0.751963	3.350556

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PAIS	1	5.3153886	5.3153886	9.40	0.0024
ESTACION	2	813.5979732	406.7989866	719.43	<.0001
PAIS*ESTACION	2	84.9716320	42.4858160	75.14	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PAIS	1	5.3153886	5.3153886	9.40	0.0024
ESTACION	2	813.5979732	406.7989866	719.43	<.0001
PAIS*ESTACION	2	84.9716320	42.4858160	75.14	<.0001

Anexo 7. Distribución de *Escherichia coli* en plantas procesadoras de pollo en Estados Unidos y Honduras.



Anexo 8. Análisis de varianza (ANDEVA) para *Escherichia coli* evaluadas en plantas de procesamiento de pollo de Estados Unidos y Honduras.

The SAS System

The GLM Procedure

Dependent Variable: RECUENTO_ESCHERICHIA_COLI

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	836.6972370	167.3394474	368.87	<.0001
Error	299	135.6423040	0.4536532		
Corrected Total	304	972.3395410			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	RECUENTO_ESCHERICHIA_COLI Mean
0.860499	21.81933	0.673538	3.086885

Source	DF	Type I SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PAIS	1	2.1576701	2.1576701	4.76	0.0300
ESTACION	2	744.6394623	372.3197311	820.71	<.0001
PAIS*ESTACION	2	89.9001047	44.9500523	99.08	<.0001

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
PAIS	1	1.8343409	1.8343409	4.04	0.0452
ESTACION	2	746.3930053	373.1965026	822.65	<.0001
PAIS*ESTACION	2	89.9001047	44.9500523	99.08	<.0001