

CONTAMINACIÓN POR *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN EL PROCESAMIENTO DE UN EMBUTIDO FERMENTADO PORTUGUÉS (*LINGUIÇA*)

Cadavez*, V., Pereira, A. P., Gomes, A., Silva, F., Estevinho, L., Gonzales-Barron, U., y Dias, T.

Escola Superior Agrária, Instituto Politécnico de Bragança. Campus de Santa Apolónia, Braganza. Portugal. *vcadavez@ipb.pt

INTRODUCCIÓN

A pesar que los embutidos fermentados portugueses gozan de mucha apreciación entre los consumidores, la producción de los mismos está sujeta a una extensa variabilidad de los procesos, y, a veces, a deficiencias en higiene (Esteves *et al.*, 2006). La *linguiça* es un embutido fermentado seco, muy consumido en Portugal, hecho con carne de cerdo y sometido a procesos de maceración, maduración, ahumado y secado a temperaturas bajas (8-15°C). Como ingredientes para la maceración, se utiliza agua, vino tinto, sal, pasta de ajos y pimentón. Aunque la inocuidad microbiológica de la *linguiça* ha sido poco investigada, un trabajo reciente de meta-análisis de patógenos en carnes y productos cárnicos portugueses concluye que *Staphylococcus aureus* es un patógeno recurrente en los embutidos fermentados portugueses (Xavier *et al.*, 2014), con una incidencia (22,6%, 95% IC: 15,4 – 31,8%) mayor que la *Salmonella* spp. (9,8%, 95% IC: 7,0 – 13,4%) y la *Listeria monocytogenes* (8,8%, 95% CI: 6,5 – 11,8%). Este trabajo tuvo como objetivo investigar los niveles de *S. aureus* – y de otros indicadores de higiene – en el proceso productivo de la *linguiça*, por medio de una serie de muestreos de los ingredientes y carne/embutido en diferentes etapas (maceración, embutido y ahumado/secado) de la producción.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los muestreos fueron realizados en tres lotes de producción de dos fábricas de *linguiça*. En cada lote, se hizo un seguimiento al proceso productivo, muestreando carne cruda (n=3), mezcla de la carne con los ingredientes antes del macerado (n=3), mezcla después de 3 ó 4 días de macerado, dependiendo del proceso productivo particular de cada fábrica (n=3), y embutidos después del secado (n=5). Para analizar las muestras de alimentos, 25 g de producto fueron adicionados a 225 ml de BPW y homogenizados por 2 min. Los mesófilos totales y *Enterobacteriaceae* fueron enumerados con placas Petrifilm™ AC e Petrifilm™ EB, respectivamente. Para la cuantificación de *S. aureus* coagulasa positivos se usaron en conjunto los Petrifilm™ STX y Petrifilm™ Staph Express Disk, de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las características intrínsecas de los productos (pH y actividad de agua Aw) también fueron cuantificadas desde una perspectiva de evaluación de su estabilidad. Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para las variables mesófilos, *Enterobacteriaceae*, *S. aureus*, pH y Aw, con la finalidad de extraer un pequeño número de componentes o factores que retengan tanta información como fuese posible. El análisis se realizó en el software R versión 2.14.2 (R Development Core Team).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados evidenciaron una gran variación en el proceso productivo de la *linguiça* entre las dos fábricas investigadas. Mientras que en la fábrica A se realizó una maduración de aprox. 3 días después del embutido, en la fábrica B, la maduración fue de aprox. 1 día antes del ahumado. Del mismo modo, la duración del proceso productivo de los lotes varió desde 8 a 22 días. El análisis de componentes principales (Tabla 1) indica que los dos componentes extraídos explican hasta un 73% de la variancia total de las 5 variables estudiadas. Las variables que más contribuyeron al componente principal 1 fueron el pH, Aw, mesófilos y *S. aureus*, explicando 46% de la variabilidad de los datos. El hecho que, dentro del mismo componente 1, las concentraciones de *S. aureus* y mesófilos tengan signo positivo, y el pH y la Aw tengan signo negativo, indica que a lo largo del proceso (al disminuir Aw y pH durante la fermentación) hubo una tendencia de estos dos indicadores de higiene y manipulación de alimentos a aumentar. Por otro lado, también demuestra que *S. aureus* tiene capacidad de desarrollar en la *linguiça*, a pesar de la disminución de la Aw (o aumento de la concentración de sal) y de las variaciones en la acidez del medio. Este comportamiento es descrito por el componente 1. En cuanto al componente principal 2, las variables que más contribuyeron fueron la concentración de *Enterobacteriaceae* y la Aw,

explicando un 27% de la variancia total. Nótese que, en este caso, ambas variables tienen una correlación positiva con el componente 2; lo cual sugiere que a medida que la Aw disminuye durante el proceso productivo de la *linguiça*, las *Enterobacteriaceae* tienden a disminuir. Esto queda representado en el componente 2.

Una forma de ilustrar los cambios en las propiedades intrínsecas (pH y Aw) y los niveles microbianos, es mediante una proyección de las observaciones en el espacio bidimensional definido por los dos componentes principales (i.e., funciones lineales de las variables). La Figura 1 muestra las proyecciones de dos lotes de producción de cada una de las fábricas. En ambos casos, se puede apreciar que, al inicio del proceso productivo, la carne cruda presenta niveles de *Enterobacteriaceae* (correlacionado con el componente 2) más altos que de *S. aureus* (correlacionado con el componente 1). Del mismo modo, ambas fábricas exhiben poca diferencia en contaminación microbiana entre las carnes antes de la maceración (carne con ingredientes) y después de la maceración (embutido). En el caso del lote de la fábrica A, se observó un incremento de las *Enterobacteriaceae* hacia el fin de la maduración, mientras que en la fábrica B no se incrementan las *Enterobacteriaceae* hacia el fin del ahumado, pero sí los *S. aureus*. En la proyección de las etapas de producción en los componentes principales (Tabla 1), también se puede apreciar que, en ambos lotes, el producto terminado aparece alejado de las otras fases en lo que respecta a propiedades intrínsecas y calidad microbiológica. En comparación con la carne cruda, el producto terminado presenta menores niveles de *Enterobacteriaceae* y mayores niveles de *S. aureus*. Observe que a medida que transcurre el procesamiento (mezcla, embutido, madurado/ahumado y producto terminado), las concentraciones de *S. aureus* tienden a aumentar. La detección de *S. aureus* en todos los puntos de muestreo es un indicativo de la contaminación continua del producto a través del procesamiento y de la existencia posible de rutas de contaminación cruzada. La presencia de este microorganismo es considerada como un indicativo de procedimientos higiénicos inadecuados, particularmente asociados a la manipulación. Es posible que existan deficiencias en los manipuladores porque en ambas fábricas se observan incrementos de *S. aureus* durante la mezcla (fábrica A; Fig. 1 izquierda) y mayores incrementos en la fábrica B durante la mezcla y el embutido (Fig. 1 derecha). Por otro lado, también indica que la fermentación que ocurre durante las etapas de maduración, ahumado y secado, no inhibe al *S. aureus*, sino que éste continúa a ser viable debido a su resistencia a los cambios en pH y sobre todo a las bajas actividades de agua. En cambio, los recuentos de *Enterobacteriaceae*, aunque no son eliminados completamente, disminuyeron ($p < 0.01$) hacia el final del producto (datos no mostrados), debido a la inhibición que sufren por la disminución de la Aw, así como por las bacterias fermentativas que producen ácidos orgánicos, peróxidos y bacteriocinas.

La *linguiça* es un producto cárnico que puede ser consumido crudo. Por tanto, es imperioso llevar a cabo más investigaciones para controlar la presencia de *S. aureus* en este producto. La producción de metabolitos por parte de las bacterias fermentativas durante las etapas de maduración, ahumado y secado, no asegura la inhibición de *S. aureus*, por lo que deben aplicarse medidas de control en la materia prima e ingredientes, así como mejoras a nivel de manipulación de alimentos e higienización de equipos.

Tabla 1. Correlaciones de las variables con los dos componentes principales extraídos y proporción explicada de la variancia total

Variable	Componente 1	Componente 2	Comunalidad
pH	-0.71	0.13	0.52
Aw	-0.69	0.60	0.84
<i>S. aureus</i>	0.77	0.00	0.59
Mesófilos	0.86	-0.02	0.74
<i>Enterobacteriaceae</i>	0.02	0.97	0.94
<i>Eigenvalues</i>	2.32	1.32	
Variancia acumulada	46%	73%	

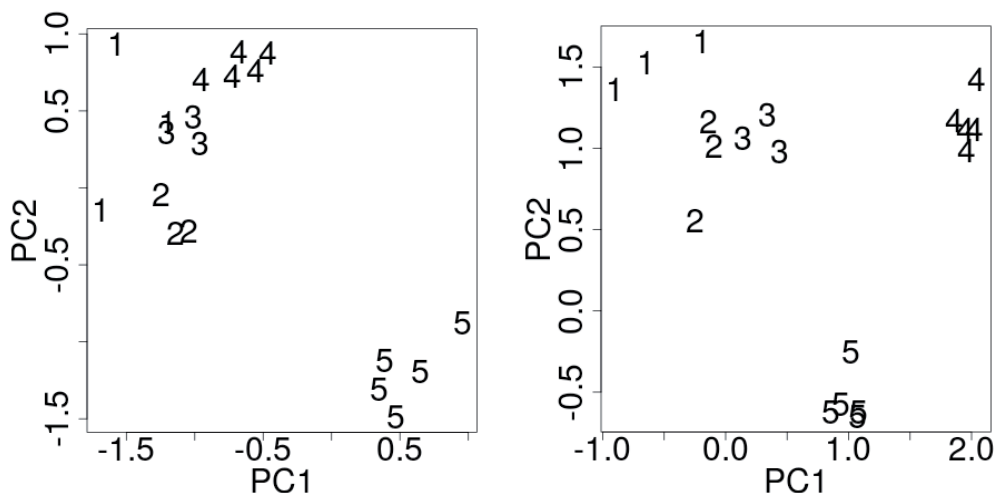


Figura 1. Proyección de las observaciones en el espacio bidimensional definido por los componentes principales 1 (eje-x, 46%) y 2 (eje-y, 26%) para un lote de producción de linguiça de la fábrica A (izquierda) y B (derecha) (1=carne cruda, 2=mezcla de carne e ingredientes, 3=embutido, 4=madurado (izquierda), 4=ahumado (derecha), 5=producto final).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Esteves, A., Saraiva, C., Fontes, M. C., y Martins, C. 2006. Hygienic quality and safety of traditional meat products from particular producer of Tras-Os-Montes. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 101(557-558): 109 – 114.
- Xavier, C., Gonzales-Barron, U., Paula, V., Estevinho, L., y Cadavez, V. 2014. Meta-analysis of the incidence of foodborne pathogens in Portuguese meats and their products. *Food Research International*, 55: 311 – 323.

Agradecimientos:

Esta investigación se realizó dentro del proyecto PTDC/AGR-TEC/3107/2012, financiado por la Fundación Portuguesa de Ciencia y Tecnología (FCT)/Fondos Europeos de Desarrollo Regional (FEDER). La Dra. Gonzales-Barron agradece el apoyo financiero provisto por la FCT a través del programa 'Investigator Fellowship' (IF/00570).

CONTAMINATION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IN THE PRODUCTION LINES OF A PORTUGUESE FERMENTED SAUSAGE (*LINGUIÇA*)

ABSTRACT: *Linguiça* is a Portuguese dry-fermented sausage, which has been found to harbour food-borne pathogens in the past. Hence, the objective of this study was to investigate the levels of total viable counts (TVC), *Enterobacteriaceae*, and *S. aureus* at the key production stages of *linguiça* by depicting their changes using principal component analysis. Unlike *Enterobacteriaceae* counts, which decreased from raw meat to final product, *S. aureus* increased significantly in the meats throughout processing. While *Enterobacteriaceae* was very sensitive to the decrease in water activity, *S. aureus* remained viable and developed during fermentation. The presence of *S. aureus* at all stages should prompt industries to reinforce good hygiene practices in the processing of *linguiça*.

Keywords: *Enterobacteriaceae*, principal component analysis, pH, water activity