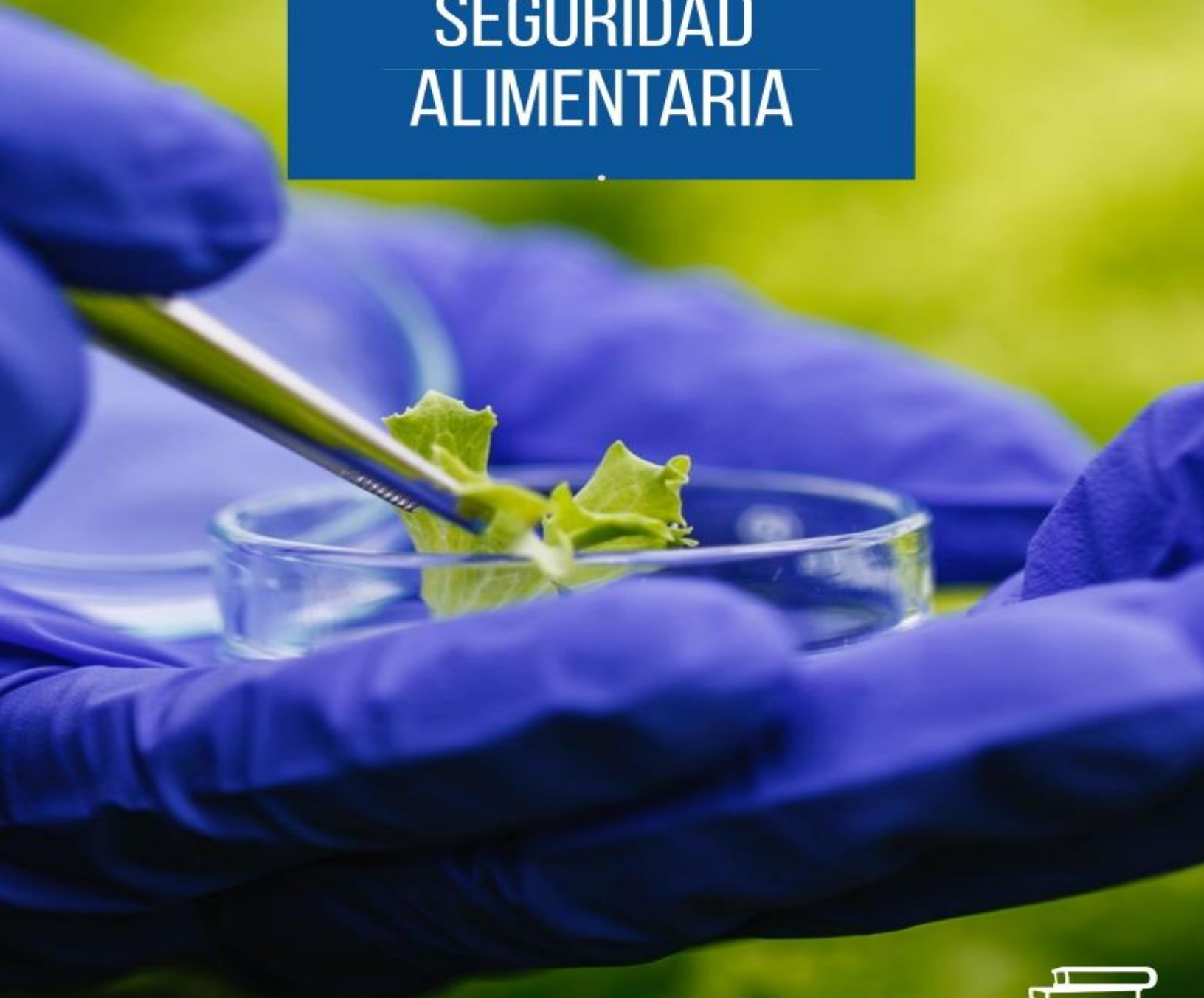


# LA INOCUIDAD DE ALIMENTOS Y SU APORTE A LA SEGURIDAD ALIMENTARIA





# LA INOCUIDAD DE ALIMENTOS Y SU APORTE A LA SEGURIDAD ALIMENTARIA

**Colección:**  
**Resultado de Investigación**

**Volumen No. 1**

Primera Edición 2020

**Universidad Popular del Cesar**

**Editorial EIDEC**

**NIT: 900583173-1**

**Sello editorial: 978-958-52636**

**ISBN: 978-958-52636-6-6**

**DOI: <https://doi.org/10.34893/VPHP-XE18>**

**Fecha Publicación: 2020-07-22**

**[comiteeditorial@editorialeidec.com](mailto:comiteeditorial@editorialeidec.com)**

**[www.editorialeidec.com](http://www.editorialeidec.com)**

Colombia





# LA INOCUIDAD DE ALIMENTOS Y SU APORTE A LA SEGURIDAD ALIMENTARIA

## Autores

Fragoso-Castilla, Pedro José <sup>1</sup>

Prada-Herrera, Juan Carlos <sup>2</sup>

Peña-Córdoba, Rosmiro Elías<sup>3</sup>

Herrera-Demares, Patricia del Carmen<sup>4</sup>

Giraldo-Jaramillo, Shellsyn<sup>5</sup>

Pedraza- Claros, Bertilda<sup>6</sup>

Ruidiaz – Méndez, Yumar Esther <sup>7</sup>

Morales-Lopez, Sorayaeugenia<sup>8</sup>

Mejía – Padilla, Franklin<sup>9</sup>

Producto resultado de investigación con revisión de pares evaluadores<sup>10</sup>

---

<sup>1</sup> Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Milenio, Universidad Popular del Cesar.

<sup>2</sup> Grupo de Investigación CINBIOS, Universidad Popular del Cesar.

<sup>3</sup> Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Milenio, Universidad Popular del Cesar.

<sup>4</sup> Grupo de Investigación CINBIOS, Universidad Popular del Cesar.

<sup>5</sup> Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Milenio, Universidad Popular del Cesar.

<sup>6</sup> Grupo de investigación CienciaUdes, Valledupar, Colombia.

<sup>7</sup> Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Milenio, Universidad Popular del Cesar.

<sup>8</sup> Grupo de Investigación CINBIOS, Universidad Popular del Cesar

<sup>9</sup> Grupo de Investigación CINBIOS, Universidad Popular del Cesar

<sup>10</sup> Red de Investigación en Educación, Empresa y Sociedad – REDIEES. [www.rediees.org](http://www.rediees.org)

# CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN.....	8
II.	LA CALIDAD HIGIÉNICA DE LOS ALIMENTOS Y SU APORTE A LA SEGURIDAD ALIMENTARIA .....	10
III.	COLIFORMES EN LAS PRINCIPALES HORTALIZAS QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS SUPERMERCADOS DE VALLEDUPAR, CESAR – COLOMBIA .....	19
IV.	UTILIZACIÓN DE LA NISINA COMO CONSERVANTE DE LA SALCHICHA TIPO PERRO BAJO CONDICIONES DE LA PLANTA PILOTO DE LA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR.....	30
V.	BIOCONSERVACIÓN MEDIANTE LACTOBACILLUS PLANTARUM, LACTOCOCCUS LACTIS Y LACTOCOCCUS CREMORIS EN CHORIZOS ELABORADOS ARTESANALMENTE EN EL MERCADO PÚBLICO DE LA CIUDAD DE VALLEDUPAR.....	40
VI.	DETECCIÓN DE VIBRIO SPP EN MOLUSCOS BIVALVOS COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE VALLEDUPAR-CESAR.....	52
VII.	IDENTIFICACIÓN DE ANISÁKIDOS EN PESCADOS DEL RÍO CESAR .....	63
VIII.	EFFECTO INHIBITORIO DEL ACEITE DE LA SEMILLA DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA) SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS AISLADAS DEL BOCACHICO (PROCHILODUS MAGDALENAE) VALLEDUPAR COLOMBIA.....	74
IX.	RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN LOS ALIMENTOS: PERSPECTIVAS ACTUALES, CONTEXTO NACIONAL E IMPORTANCIA DE SU DETECCIÓN DESDE EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA .....	92



# INTRODUCCIÓN

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) representan un importante reto para la salud pública a nivel global; afectan principalmente a población de escasos recursos, niños, ancianos y mujeres embarazadas, generando pérdidas económicas y grandes costos a los servicios de salud, siendo motivo de atención por parte de los organismos sanitarios internacionales.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que las ETAs afectan a 1 de cada 10 personas, provocan la pérdida de 33 millones de años de vida saludable, 420000 muertes anuales y el 30% de estas muertes ocurren en niños menores de 5 años. La región de las Américas tiene la segunda carga más baja de enfermedades de transmisión alimentaria a nivel mundial, 77 millones de personas se enferman anualmente al consumir alimentos contaminados y de esas personas mueren alrededor de 9000 al año. De las personas que se enferman, 31 millones son menores de cinco años y de ellos mueren más de 2000 al año. En Colombia la vigilancia de este evento empieza en el año 2000, con la notificación de 2983 casos. En los años posteriores el comportamiento en la notificación fue al aumento, debido al fortalecimiento de la vigilancia. Para el año 2019 se han notificado al Sivigila 187 brotes. (Carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria: estimaciones de la OMS. 2015)

La inocuidad alimentaria, definida como "la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso al que se destinan" (Min. Salud, 2017, pág. 1), es un tema complejo que posee un impacto en todos los segmentos de la sociedad, abarcando consumidores, gobierno, industria alimentaria y la academia. Aunque los esfuerzos se han centrado en aumentar la producción de alimentos sanos y seguros, utilizando nuevas tecnologías, buenas prácticas de manufactura, control de calidad y medidas de higiene y seguridad, tales como la implementación del Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control (HACCP), las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) siguen siendo responsables de altos niveles de morbilidad y mortalidad, tanto en países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo, generando cuantiosas pérdidas para la salud pública, la salud animal y la industria alimentaria.



La globalización del mercado, la introducción de nuevos productos y procesos de fabricación, junto a la creciente demanda por alimentos listos para el consumo, requieren por lo general, de una cadena de producción más larga y compleja, lo que aumenta el riesgo de contaminación microbiológica. Considerando los cambios ambientales globales, el surgimiento de nuevas patologías emergentes y las rápidas vías para el transporte de personas y animales alrededor del planeta, resulta evidente un escenario epidemiológico dinámico que plantea un gran desafío para los países, especialmente en las necesidades de profundizar el conocimiento y contar con un capital humano preparado para dar respuesta oportuna a los requerimientos de prevención y control de las ETAs.

En este contexto, la Asamblea General de la ONU en su sesión del 20 de diciembre de 2018, resuelve designar el 7 de junio día mundial de la Inocuidad de los Alimentos (A/RES/73/250), con la finalidad de generar conciencia y de asegurarse de que las normas del Codex se traduzcan en acción en todas partes. La inocuidad de los alimentos es fundamental para lograr el cumplimiento de varios Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), y la conmemoración de un día específico de las Naciones Unidas la situaría al centro de la atención, ayudando, de este modo, a prevenir, detectar y gestionar los riesgos de enfermedades transmitidas por los alimentos.

El programa de microbiología, el Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Milenio de la Universidad Popular del Cesar y Laboratorios Bioindalamb se unieron a la celebración del día mundial de la Inocuidad de los alimentos desarrollando el II Simposio de Higiene e Inocuidad Alimentaria, con el fin de:

- Promocionar la importancia de la inocuidad de los alimentos.
- Motivar a las autoridades y a la industria a que establezcan sólidos sistemas de control de los alimentos, fomenten la colaboración multisectorial y promuevan la inocuidad de los alimentos.
- Integrar los principios básicos de la prevención y el control de las enfermedades transmisibles.
- Comprender los factores que explican y predisponen a la emergencia de agentes biológicos.
- Valorar el impacto de las enfermedades transmitida por los alimentos.

# LA CALIDAD HIGIÉNICA DE LOS ALIMENTOS Y SU APORTE A LA SEGURIDAD ALIMENTARIA<sup>11</sup>

Bertilda Pedraza<sup>12</sup>, Lorena Cordoba<sup>13</sup>

## RESUMEN

La seguridad alimentaria refleja la condición de salud del hombre, esta depende del acceso a alimentos nutritivos e ino cuos en calidad y cantidad suficiente, coadyuvada con actividades físicas adecuadas según la etapa de vida de cada persona. El desequilibrio en estos componentes favorece la aparición de enfermedades, provocada por gérmenes oportunistas y/o patógenos que invaden a las células huésped, Se trasmite a partir de diversas fuentes, destacándose alimentos y agua de consumo contaminados por agentes patógenos con capacidad de desarrollo y proliferación en estas matrices tanto a nivel superficial como profunda. Esta disertación pretende mostrar cómo influye la inocuidad de los alimentos en la seguridad alimentaria, desde la premisa que los alimentos se han convertido en uno de los principales vehículos de enfermedades gastrointestinales causada por bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas nocivas para la salud. Las cuales han causado más de 200 enfermedades, cada año a unos 550 millones de personas y provocan 230 000 muertes, manifestándose casos leves de diarreas hasta apariciones de cáncer. La población más afectada han sido los niños menores de 5 años, quienes soportan un 40% de la carga atribuible a estas enfermedades que provocan 125 000 defunciones cada año, entre los principales gérmenes patógenos se enuncia *Salmonella o Escherichia coli* enterohemorrágica, parásitos como *Cryptosporidium* y los trematodos (OMS, 2003).

**PALABRAS CLAVE:** Alimentos, Bacterias, Calidad, Enfermedad, Inocuo, Patógenos.

---

<sup>11</sup> Derivado del proyecto de investigación: Modelo descriptivo de minería de datos para la determinación de los factores de éxito en innovación empresarial en Colombia y México

<sup>12</sup> Bacterióloga, Universidad Metropolitana de Barranquilla, Magíster en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia, Docente, Universidad de Santander, correo: [ber.pedraza@mail.udes.edu.co](mailto:ber.pedraza@mail.udes.edu.co).

<sup>13</sup> Bacteriólogo y Laboratorista Clínico, Universidad de Santander, magister en Gestión en servicios de Salud, Universidad de Santander, docente, Universidad de Santander, correo electrónico: [lor.cordoba@mail.udes.edu.co](mailto:lor.cordoba@mail.udes.edu.co).

## **ABSTRACT**

Food security reflects the health condition of man, being dependent on access to nutritious and safe food in sufficient quality and quantity, assisted with adequate physical activities according to the stage of life of each person, the imbalance in these components causes the disease, caused by opportunistic germs and pathogens that invade the host cells transmitted by various sources, highlighting the presence of pathogens in food and water that affect individuals through their consumption in a state of contamination from superficial to deep, this dissertation aims to show how food safety influences food safety, from the premise that food has become one of the main vehicles of gastrointestinal diseases caused by bacteria, viruses, parasites or chemicals harmful to health, which have caused more than 200 diseases, each year to one's 550 million people and cause 230,000 deaths, which range from mild diarrhea to the appearance of cancer, where the most affected population continues to be children under 5 years of age who bear 40% of the burden attributable to diseases and cause each year 125,000 deaths in this age group, among the main pathogens we list Salmonella or enterohemorrhagic *Escherichia coli*, and parasites such as *Cryptosporidium* or trematodes (WHO, 2003)

**KEYWORDS:** Foods, Bacteria, Quality, Disease, Innocuous, Pathogens.

## INTRODUCCIÓN

La contaminación de los alimentos por agentes microbiológicos es un problema de salud pública mundial, son el resultado de la presencia de contaminación en ambientes inertes e inadecuado procesos de limpieza e higiene de los alimentos antes de su consumo, esta se puede obtener desde las fases de preparación, fabricación, envasado, almacenamiento, transporte, distribución, manipulación, venta o suministro al consumidor, estas falencias en las industrias de alimentos se pueden disminuir o evitar mediante la implantación de los Principios Generales del Codex sobre Higiene de los Alimentos que constituyen una sólida base para garantizar un control eficaz de la higiene de los alimentos, puesto abarca toda la cadena alimentaria, a partir de la producción primaria hasta el consumidor, resaltando los controles esenciales de higiene en cada etapa y recomendando la aplicación del Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control (APPCC) en todos los casos posibles, con el fin de mejorar la inocuidad de los alimentos (FAO, 2002).

El Centro para el Control y Prevención de enfermedades (CDC) reportó en 2013 un total de 19 056 infecciones alimentarias, 4200 hospitalizaciones y 80 muertes, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Centro Europeo para el Control y Prevención de Enfermedades (ECDC) reportaron para 2012 un total de 55 453 casos, 5118 hospitalizaciones y 41 muertes (Varela, Lavalle & Alvarado, 2016) y en Colombia en el año 2018 se notificaron al Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIVIGILA) del Instituto Nacional de Salud, un total de 11502 casos de Enfermedades transmitidas por alimentos o agua (INS, 2013).

La incidencia de estas enfermedades es un indicador directo de la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos, es decir que demuestran que la contaminación de éstos puede ocurrir por incumplimiento de las buenas prácticas agrícolas y de manufactura durante procesamiento o por utilización de materia prima contaminada, pues algunas bacterias patógenas para el hombre forman parte de la flora normal de aves, cerdos y ganado, los principales grupos microbianos con efectos negativos en la salud encontramos Norovirus, *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Campylobacter*, *Staphylococcus aureus*, siendo ciertos géneros y especies los de mayor interés en la permanencia de la enfermedad hasta requerir

hospitalización como es el caso de *Clostridium bolutinin*, *Listeria* , *Escherichia coli* O157 y *Vibrio* (figura 1) (Ríos, Agudelo & Gutiérrez., 2017).

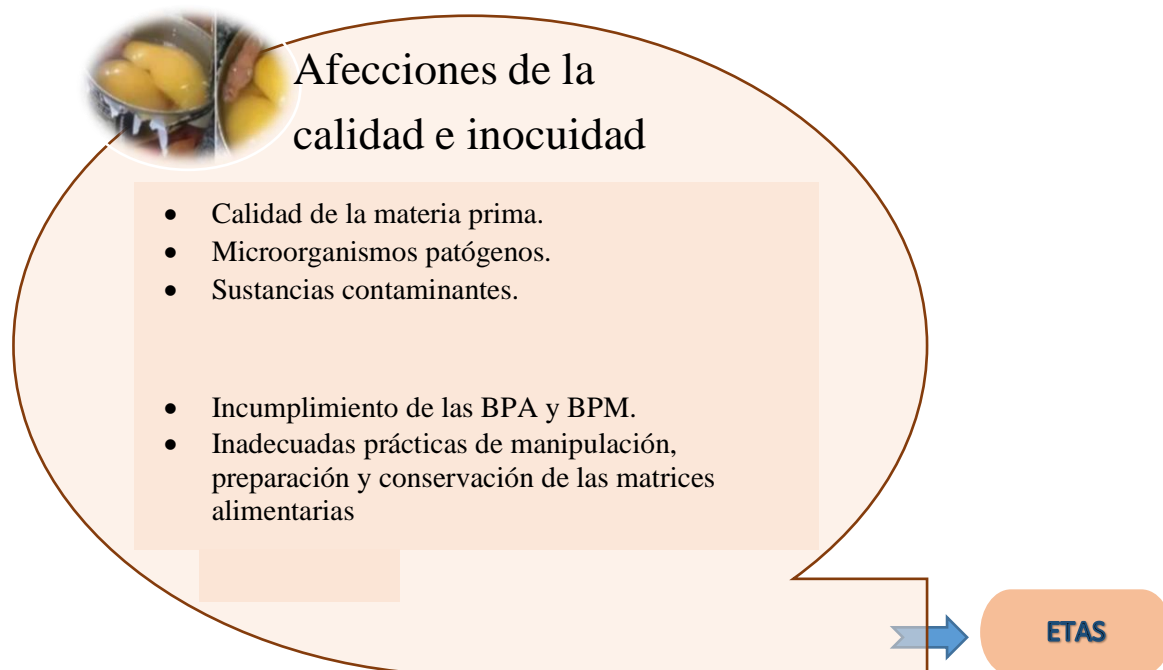


Figura 1. Ejes de los criterios de inocuidad

La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquiera de las etapas del proceso de fabricación o de distribución, aunque la responsabilidad recae principalmente en el productor. Sin embargo, una buena parte de las enfermedades transmitidas por los alimentos son causadas por alimentos que han sido preparados o manipulados de forma incorrecta en el hogar, en establecimientos que ofrecen comida o en los mercados. No todos los manipuladores y consumidores de alimentos entienden la importancia de adoptar prácticas higiénicas básicas al comprar, vender y preparar alimentos para proteger su salud y la de la población en general, según Forero en 2017 encontró que el 97% de los restaurantes escolares preparan y sirven alimentos en el mismo lugar, donde el 100% de los restaurantes prepara los alimentos para un solo día de servicio, en más de la mitad, los alimentos se dejan por un período superior a dos horas en enfriamiento lento hasta su consumo en este se encontró *E. coli*, *E. aureus*, *Salmonella spp*, *L. monocytogenes* entre otros microorganismos capaces de producir afectación en la salud especialmente en niños (Forero y Galindo, 2017).

Los sistemas de gestión y control alimentarios en los países en desarrollo no siempre están bien organizados y desarrollados como en el mundo industrializado, los sistemas alimentarios en los países en desarrollo siguen estando sujetos a tensión, lo que perjudica la calidad e inocuidad de los suministros alimentarios la labor desarrollada por el Codex en los sectores de la calidad e inocuidad de los alimentos, la protección del consumidor y las cuestiones relativas al comercio internacional de productos alimenticios es tan completa y fundamentada científicamente que cabe aconsejar a los gobiernos de los países en desarrollo que se aprovechen plenamente de ella en sus respectivos esfuerzos por mejorar el control de los alimentos (Reynolds & Dolasinski, 2019).

Los países en desarrollo deberían participar más activamente en la labor de la Comisión para asegurar que se tengan suficientemente en cuenta los intereses de sus consumidores y los intereses económicos nacionales, la comisión del Codex alimentario suma esfuerzos con los diferentes programas de gobiernos y organización no gubernamentales para la implantación y verificación en el cumplimiento de los planes de capacitación a los manipuladores quienes poseen el principal foco de riesgo en la contaminación de origen alimentario (Fallis, 2013).

La inocuidad de los alimentos, la nutrición y la seguridad alimentaria están relacionadas. Los alimentos insalubres generan un círculo vicioso de enfermedad y procesos de malnutrición, que afecta especialmente a lactantes, niños pequeños, ancianos y los enfermos, esta es la principal razón para mejorar la calidad de los alimentos complementarios y las prácticas de alimentación reflejado en los sistemas alimentarios deben garantizar que ofrezcan una alimentación nutritiva, inocua y asequible, la seguridad alimentaria desde el eje de la inocuidad está ligada a evitar o prevenir el desarrollo de microorganismos patógenos que cada día se adaptan de mejor manera a las diversas condiciones del cambio climático logrando aumentar el potencial de crecimiento a altas temperaturas, que permite a las bacterias mayor resistencia y aunado a la falta de inocuidad del agua y los alimentos se crea un ambiente propicio para la aparición de diarrea y malnutrición, una amenaza para el estado nutricional de la población vulnerables, situación que debe minimizarse mediante líneas de acciones para lograr la seguridad alimentaria nutricional o SAN (FAO,2017).

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Los brotes de ETA se han constituido como los lineamientos de la política nacional, que migran sus esfuerzos a la consolidación de estrategias que reduzcan la carga de enfermedad por ETA en el país, dentro de los parámetros que deben cumplir las empresas para el aporte en la seguridad alimentaria vista desde la calidad microbiológica de los alimentos encontramos las normas de calidad e inocuidad nacionales y las internacionales.

Toda empresa en primera medida debe responder a la implementación de las buenas prácticas de manufactura o prerrequisitos que se deben cumplir para garantizar la inocuidad y salubridad de los alimentos, las cuales están enmarcadas en la implementación, monitoreo, verificación de los planes y programas álgidos para lograr prevenir la contaminación en las industrias encargadas de la preparación, fabricación, envasado, almacenamiento, transporte, distribución, manipulación, venta o suministro de alimento a los consumidores, para Colombia la norma actual es la Resolución 2674 de 2013 que comenzó a regir en el 2015 y es auditada por el Instituto nacional de vigilancia en medicamento y alimentos INVIMA, aunado con sistemas de prevención con HACCP y la norma internacional ISO 22000, hacen parte de las exigencias actuales de los mercados internacionales.

La puesta en marcha de controles desde la recepción de la materia primas e insumos y durante todos los procesos tecnológicos de producción permite a las industrias planear acciones que contribuyan al mejoramiento continuo de la calidad y seguridad de los alimentos, constituyéndose en los requisitos para la implementación del sistema de gestión de la inocuidad (figura 2), cumplir la tarea de garantizar la calidad e inocuidad de los alimentos mediante la aplicación de sistemas de garantía de la calidad y de control de la inocuidad de los alimentos basado en los riesgos, empleando los conocimientos científicos actuales es la mejor alternativa de competitividad del sector de la industria de alimentos.

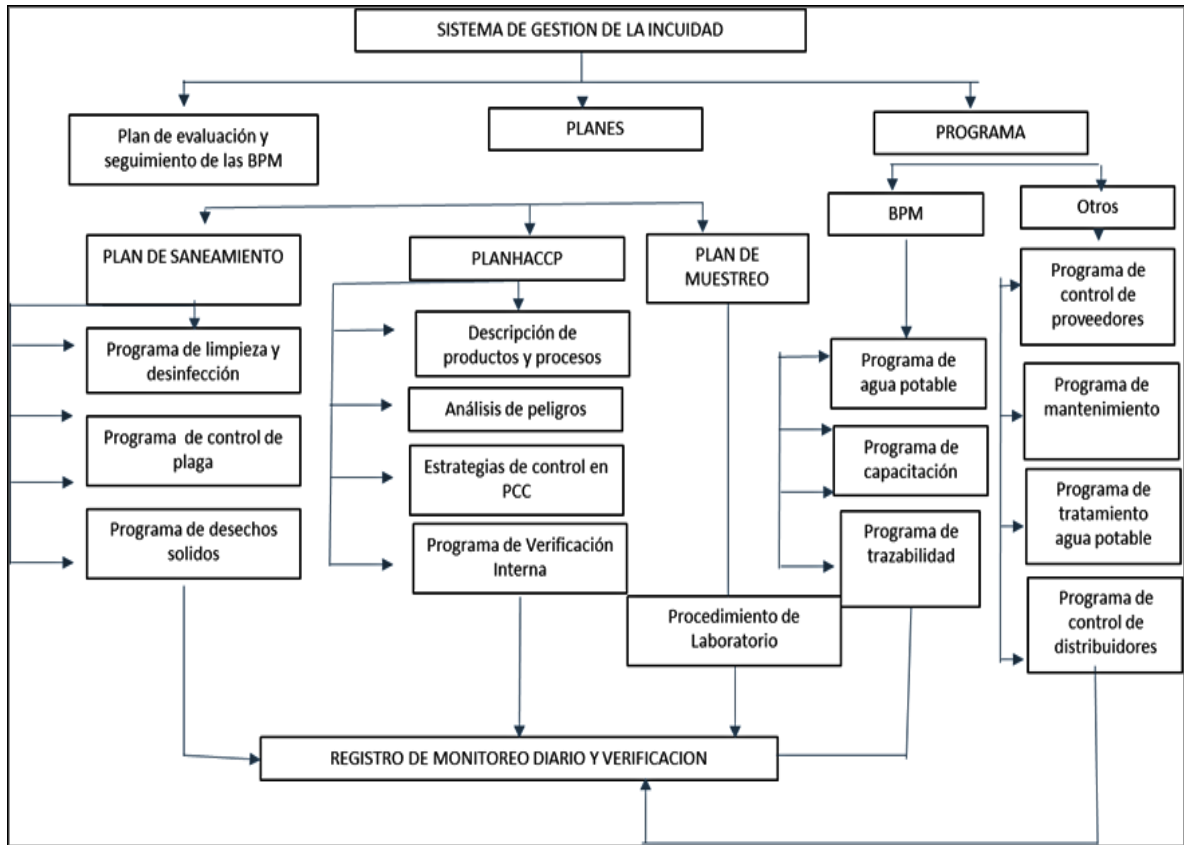


Figura 2. Sistema de Gestión de Inocuidad.

La distribución y comercialización de alimentos en las diversas cadenas alimentarias pueden constituirse en mecanismos transitorios accesibles por su corta distancias o tediosos por la amplia distancia donde pueden intervenir muchos intermediarios, que puede convertirse en elementos que favorecen la contaminación. Los sistemas de conservación, elaboración y envasado de los alimentos pueden ser mínimos o muy complejos, pero la garantía de la calidad e inocuidad de los alimentos en todas las situaciones ha de ser una constante (ONU, DAES, 2017).



## **RESULTADOS**

A partir de la puesta en marcha de la aplicación de la normatividad colombiana en el sector alimentario en las empresas se logra minimizar los riesgos para la salud de los consumidores, así mismo en el último quinquenio se ha estado ajustando las exigencias de la implementación de las buenas prácticas agrícolas, ganaderas y veterinarias tratando de cumplir con la Política Nacional de Sanidad Agropecuaria e Inocuidad de Alimentos, con enfoque de análisis del riesgo desde el campo a la mesa (DNdP, D. N. P., 2005) la situación actual en el cumplimiento de esta norma sigue siendo muy débil en nuestro país, este hecho invita al trabajo conjunto de equipos académicos, empresa y gobierno para mejorar la competitividad de sector.

La implementación de los programas de buenas prácticas de manufactura en las empresas cada día es más álgida para la comercialización de productos tanto a nivel local, regional y nacional y es requisito fundamental para la implementación de los sistemas de gestión de inocuidad alimentaria en Valledupar las empresas vienen haciendo el ejercicio paulatinamente, con el acompañamiento de la academia como aporte en el control y seguridad de la inocuidad durante los procesos tecnológicos aplicado desde la recepción de la materias primas e insumos, transformación, empaque, almacenamiento y salida de los productos al mercado (Min. Salud y Protección Social, 2013).

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

La producción y transformación de alimentos ha sido motor de grandes industrias en el mundo, sin embargo, se ha convertido en el principal factor de riesgo de contraer enfermedades de transmisión alimentaria, que les ha generado pérdidas económicas y prestigio a empresas sin reconocimiento comercial así mismo algunas con amplio reconocimiento a nivel nacional e internacional, hechos que obedecen a un inadecuado cumplimiento de los sistemas, programas y planes establecidos para el control de riesgo en el sector de alimentos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FAO. Publicado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y el Ministerio de Sanidad y Consumo de España [Internet]. 2002. Available from: [http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits\\_es/others/docs/sistema.pdf](http://www.fao.org/ag/agn/CDfruits_es/others/docs/sistema.pdf)
- Varela ZS, Lavalle LP, Alvarado DE. 2016. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: Una mirada en Colombia. Vol. 32, Salud Uninorte. Universidad del Norte; p. 105–22.
- Instituto Nacional de Salud (INS). 2013 BES Semana epidemiológica 52 23 al 29 de diciembre de 2018 [Internet]. 2018. 31 p. Available from: <https://bit.ly/2C3CCKY>
- Ríos-Tobón S, Agudelo-Cadavid RM, Gutiérrez-Builes LA. 2017. Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. Rev Fac Nac Salud Pública;35(2); p. 236–47.
- Forero Torres Y, Galindo Borda M, Ramírez G, Forero Torres Y, Galindo Borda M, Ramírez G. 2017. Patógenos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes escolares de Colombia. Rev Chil Nutr [Internet]. [cited 2019 Sep 5];44(4); p 325–32.
- Reynolds J, Dolasinski MJ. 2019. Systematic review of industry food safety training topics & modalities; 105(May); p. 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.05.015>
- Fallis A. 2013. Comité del CODEX sobre sistemas de inspección y certificación de importaciones y exportaciones de alimentos. J Chem Inf Model; p.53 (9):1689–99.
- FAO. El Estado De La Seguridad Alimentaria Y Nutricional En El Mundo [Internet]. Informe. 2017. 144 p. Available from: <http://www.fao.org/3/a-I7695s.pdf>
- ONU DAES La población mundial aumentará en 1.000 millones para 2030 | Naciones Unidas Departamento de Asuntos Económicos y Sociales [Internet]. [cited 2019 Sep 7]. Available from: <https://www.un.org/development/desa/es/news/population/world-population-prospects-2017.html>
- DNP, D. N. P. (2005). Documento Consejo Nacional de Política Económica y Social Conpes 3375: Política nacional de sanidad agropecuaria e inocuidad de alimentos para el sistema de medidas sanitarias y fitosanitarias. Rural MdAyD, Social MdP, Ministerio de Ambiente VyDT, Ministerio de Comercio IyT, editors. Bogotá.
- Ministerio de Salud y Protección Social. O O O 2 h 7 4). 2013; Available

# COLIFORMES EN LAS PRINCIPALES HORTALIZAS QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS SUPERMERCADOS DE VALLEDUPAR, CESAR – COLOMBIA <sup>14</sup>

Luis Y. Magdaniel <sup>15</sup>, Pedro J. Fragozo- Castilla<sup>16</sup>

## RESUMEN

El consumo de hortalizas a nivel global ha aumentado al igual que las Enfermedades Transmitidas por el consumo de estos Alimentos (ETAs). La Gastronomía de la región caribe incluye la preparación de ensaladas con hortalizas crudas, convirtiéndolas en potenciales vectores de ETAs. Adicional a ello, en Colombia no existen normativas establecidas para determinar la calidad microbiológica de estos alimentos, por tales motivos se hace necesaria la realización de estudios, con el fin de estudiar la calidad microbiológica de estos alimentos mediante determinación de bacterias indicadoras de calidad. Este estudio fue descriptivo de corte transversal, La selección de las muestras se realizó a través de un muestreo aleatorio simple. Durante los meses de noviembre a diciembre del año 2017 se realizaron tres (3) muestreos, recolectando nueve (9) muestras en cada uno de los puntos objeto de estudio, para un total de 27 muestras, en cada muestreo se tomaron tres (3) muestras de cada hortaliza, tomándose así Cebolla, Lechuga y Tomate en cada punto de venta por muestreo.

Las hortalizas estudiadas no son aptas para su consumo debido a que se presentaron valores de contaminación superiores a los establecidos por las normativas; sumado a ello se estableció la lechuga como el alimento con mayor nivel de coliformes, seguido del tomate y por último la cebolla, no se presentaron diferencias significativas entre supermercados ya que en general el nivel de contaminación entre todos fue muy similar. Sin embargo, dentro cada supermercado sí se evidenciaron diferencias significativas entre cada hortaliza.

---

<sup>14</sup> Derivado del proyecto de investigación: Determinación de enteroparásitos y bacterias indicadoras de calidad en hortalizas expandidas por supermercados de Valledupar - Cesar

<sup>15</sup> Bacteriología, Universidad del Saantander – UDES – Valledupar, Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad del Zulia, Maracaibo – Venezuela. PhD. Medicina Tropical, Sue Caribe, Universidad de Cartagena. Docente, Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Milenio, Universidad Popular del Cesar. [pedrofragozo@unicesar.edu.co](mailto:pedrofragozo@unicesar.edu.co).

<sup>16</sup>Microbiología, Universidad Popular del Cesar. Estudiante, Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Milenio, Universidad Popular del Cesar correo electrónico: [luisyairon@hotmail.com](mailto:luisyairon@hotmail.com)

**PALABRAS CLAVE:** Coliformes Totales; Fecales, E coli, ETAs; Hortalizas

## **ABSTRACT**

The consumption of vegetables globally has increased as well as the diseases transmitted by the consumption of these foods (ETAs). The Gastronomy of the Caribbean region includes the preparation of salads with raw vegetables, turning them into potential vectors of ETAs. In addition, in Colombia there are no established regulations to determine the microbiological quality of these foods, for such reasons it is necessary to conduct studies, in order to study the microbiological quality of these foods by determining quality indicator bacteria. This study was descriptive of cross-section. Sample selection was performed through simple random sampling. During the months of November to December of 2017, three (3) samples were taken, collecting nine (9) samples in each of the points under study, for a total of 27 samples, in each sampling three (3) were taken samples of each vegetable, thus taking Onion, Lettuce and Tomato at each point of sale by sampling.

The vegetables studied are not suitable for consumption because pollution values were higher than those established by regulations; In addition, lettuce was established as the food with the highest level of coliforms, followed by tomatoes and finally onions, there were no significant differences between supermarkets since in general the level of contamination among all was very similar. However, within each supermarket there were significant differences between each vegetable.

**KEYWORDS:** Total Coliforms; Fecal, E coli, ETAs; Vegetables

## INTRODUCCIÓN

Las hortalizas son una fuente importante de vitaminas, minerales, fibra y energía. El consumo de las hortalizas ha aumentado considerablemente en los últimos años, debido a que las personas están adoptando mejores hábitos de alimentación acompañados de rutinas regulares de ejercicios físicos, lo que mejora el metabolismo del organismo al igual que el estado de salud (Carrillo, 2016; Matos y Chambilla, 2010). La producción mundial anual de hortalizas supera las 52 millones hectáreas, dónde la cebolla, la lechuga, el tomate en compañía de otras hortalizas comprenden el 72% de la producción global (Asociación Hortifrutícola de Colombia, 2016; Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, 2015). Debido a su pH básico estos alimentos son susceptibles a la colonización por bacterias, hongos y parásitos (Hurtado, Sánchez y Torija, 2008; Pinto, De la vega y Cañarejo, 2016; Guzmán, Rodríguez y Calderón, 2017).

La vigilancia del estado higiénico de aguas y alimentos se lleva a cabo mediante la detección de bacterias “indicadoras” de contaminación, organismos coliformes de origen fecal como *Escherichia coli*, que normalmente sólo habitan el intestino humano o animal, lo que los convierte en excelentes indicadores de la presencia de microorganismos entéricos patógenos como los causantes del cólera, fiebre tifoidea, shigelosis, amebiasis y hepatitis (Vega, Jiménez, Salgado y Pineda, 2005) algunos de estos con capacidad de sobrevivir por largos períodos en las hortalizas frescas y de sobrevivir a procesos de desinfección e incluso de multiplicarse durante el almacenamiento.

El consumo de alimentos contaminados produce las llamadas Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs) (Rodríguez et al., 2015), las cuales afectan aproximadamente a 600 millones de personas anualmente, casi 1 de cada 10 personas y otras 420.000 mueren por esta misma causa, según la OMS los cinco principales patógenos bacterianos que pueden encontrarse en los alimentos incluyen a *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp.* y *Clostridium perfringens* (Weiler et al., 2017; Varela, Pérez, y Estrada, 2016). Los microorganismos capaces de provocar enfermedades humanas pueden encontrarse en productos agrícolas crudos, en ocasiones formando parte de la microflora de las frutas y hortalizas, como contaminantes provenientes del suelo, el polvo y el entorno (Galarza, 2017); en otros casos, se introducen a

estos alimentos a través de las deficientes prácticas de producción agrícola, donde se pueden incluir la recolección, empaque y transporte del alimento (Puig et al., 2014; Guzmán, Rodríguez y Calderón, 2017; Alvarado, Echeverry, Lizarazo y García, 2017).

La Gastronomía de la región caribe incluye la preparación de ensaladas con hortalizas crudas, convirtiéndolas en potenciales vectores de ETAs, sumado a ello en Colombia no existen normativas establecidas como tal para la calidad microbiológica de estos alimentos, por tales motivos se hace evidente la realización de este estudio, con el fin de estudiar la calidad microbiológica de estos alimentos mediante determinación de bacterias indicadoras de calidad en las hortalizas expandidas por supermercados de Valledupar – Cesar.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Las hortalizas muestreadas corresponden a las más comercializadas según entrevista directa con los gerentes de ventas de cada punto muestreado, obteniéndose lo siguiente: en primer lugar, se encontraba el tomate chonto o de cocina, seguido de la cebolla roja y por último la lechuga Batavia. La selección de las muestras se realizó a través de un muestreo aleatorio simple. Durante los meses de noviembre a diciembre del año 2017 se realizaron tres (3) muestreos, recolectando nueve (9) muestras en cada uno de los puntos objeto de estudio, para un total de 27 muestras, en cada muestreo se tomaron tres (3) muestras de cada hortaliza, tomándose así Cebolla, Lechuga y Tomate en cada punto de venta por muestreo.

Las muestras fueron colectadas en bolsas de polietileno de primer uso, etiquetadas y conservadas en cadena de frío  $\pm 4^{\circ}\text{C}$  para su traslado al Laboratorio del Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Milenio del programa de Microbiología de la facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Popular del Cesar, donde fueron procesadas y analizadas de acuerdo con el manual de bacteriología analítica de la Food and Drug Administration (FDA).

Para la identificación de bacterias indicadoras de calidad por medio del método del Número más probable (NMP), se colocaron 150 g de cada muestra en frascos de vidrio estériles, posteriormente se le adicionaron tres veces el volumen del peso de cada hortaliza, es decir eran lavadas con 450 ml de agua destilada estéril, para remover por lavado las bacterias contenidas, constituyendo la muestra de trabajo. Se inoculó 1 ml de la muestra,

diluida en una serie de tubos con caldo bilis verde brillante (Brilla) y campanas Durham (prueba presuntiva), los cuales se incubaron a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 a 48 horas.

Aquellos que presentaron turbidez con producción de gas fueron resembrados en un medio confirmativo selectivo (bilis verde brillante). El número de tubos positivos en la prueba presuntiva se interpoló en tablas para leer el índice de número más probable (NMP)/g. De cada tubo positivo de la prueba presuntiva, se transfirió una asada de suspensión a tubos con caldo *E. coli* (EC), luego y se incubaron por 24 a 48 h a  $45,5\pm 1^{\circ}\text{C}$  en baño María para evidenciar la producción de gas y calcular el NMP para coliformes fecales. Para confirmar la presencia de *E. coli* de cada tubo de EC positivo, se transfirió una asada a placa de agar eosina azul de metileno (EMB) que se incubó por 24 a 48 h a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Las colonias sospechosas se confirmaron por coloración Gram, prueba de citrato, LIA, TSI, SIM VP y RM (Rivera, Rodríguez y López, 2009).

Se utilizó análisis de varianza (ANOVA) con la prueba de normalidad y homogeneidad de varianza de Ryan-Jonier y Levene, además del método de agrupación de datos de Tukey con una confianza del 95%.

## RESULTADOS

Los resultados descritos en la tabla 1 indican que solo las cebollas de los supermercados cumplen con los estándares establecidos por la Comisión Internacional de especificaciones microbiológicas para alimentos, la cual exige que para coliformes totales, fecales y *E. coli*, el valor en hortalizas debe ser  $\leq 1000$  NMP/ g. El 100% de las muestras analizadas presentaron bacterias del grupo de los coliformes fecales, siendo la lechuga y el tomate los que presentan los índices más altos de contaminación con NMP mayores a 1000 por gramo, con valores estadísticamente muy parecidos; la cebolla presentó índices significativamente menores a 1000 NMP/g (Tabla 2). La presencia de *E. coli* se detectó en el 100% del total de muestras analizadas, la mayor frecuencia se encontró en la lechuga y el tomate.

Tabla 1

Comparación de los valores promedio de coliformes totales en las principales hortalizas que se comercializan en los supermercados de la ciudad de Valledupar-Cesar, Colombia

SUPERMERCADO	HORTALIZA	NMP/g	Norma (ICMSF) y NTS # 071
AA	Cebolla	308	coliformes totales, fecales y <i>E. coli</i> ≤ 1000 NMP/ g o UFC/g.
	Lechuga	3032	
	Tomate	2540	
BB	Cebolla	334	
	Lechuga	3068	
	Tomate	2580	
CC	Cebolla	60	
	Lechuga	828	
	Tomate	2600	

Tabla 2

Comparación de los valores promedio de coliformes fecales en las principales hortalizas que se comercializan en los supermercados de la ciudad de Valledupar-Cesar, Colombia.

SUPERMERCADO	HORTALIZA	NMP/g	Norma (ICMSF) y NTS # 071
AA	Cebolla	147	coliformes totales, fecales y <i>E. coli</i> ≤ 1000 NMP/ g o UFC/g.
	Lechuga	>1100	
	Tomate	>1100	
BB	Cebolla	205	
	Lechuga	>1100	
	Tomate	>1100	
CC	Cebolla	145	
	Lechuga	>1100	
	Tomate	>1100	

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El análisis de varianza (ANOVA) con una confianza del 95%, arrojó que no hay diferencias significativas entre supermercados en cuanto al nivel de microorganismos presenciados. Sin embargo, sí se establecen variaciones significativas entre las diferentes hortalizas dentro de un mismo supermercado, estableciéndose la lechuga como el alimento con mayor cantidad de microorganismos entre todas las muestras estudiadas, seguido del tomate y por último la cebolla.

Los resultados de esta investigación son similares a los de la investigación de Arias en el 2011, quien en la búsqueda de bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*, *E. coli* y *Salmonella spp.*, demostró que las hortalizas contenían a estos microorganismos en cantidades aceptables, detectando *E. coli* y *Salmonella spp.*



Los resultados de este estudio también pueden ser comparados con los obtenidos por Ávila, Sánchez, Muñoz, Martínez y Villalobos el 2008, quienes llevaron a cabo una investigación donde se determinó la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua México, obteniéndose como resultado valores mayores de 1100 NMP/g para coliformes totales en chiles y valores aceptables en tomates.

En una investigación realizada por Rivera et al., 2009, se obtuvieron resultados que difieren un poco con los de esta investigación, esto se debe a que de las 85 muestras de hortalizas donde se encontraban lechuga y cebolla se presentaron valores de coliformes fecales mayores a 1000 NMP/g en las lechugas y la presencia de *E. coli* se detectó en más del 24% de las muestras procesadas, con mayor frecuencia en perejil, lechuga y rabanito.

Estos resultados difieren con los obtenidos por Ocaña et al en el 2015, donde los niveles de coliformes tanto totales como fecales en muestras de tomates (*Solanum lycopersicum*) en condiciones de invernáculo en 5 municipios del estado de México, fueron aceptables dentro de las especificaciones de las normativas. Caso contrario pasa con otras investigaciones relacionadas, una de estas es la realizada por Puig et al en el 2014, donde se aislaron coliformes como cepas de *E. coli* en muestras de Acelga, Berro, Cebollino, Col, Espinaca, Lechuga, Perejil y Zanahoria, a parte solo se aislaron cepas de *Salmonella spp.* en muestras de Cebollino. También para el 2014 Gonzáles determinó la presencia de *E. coli* y *Salmonella spp.*, en Apio, Cilantro, Lechuga y Rábano, que fueron hortalizas provenientes del comercio en mercados públicos de San Salvador.

Las hortalizas estudiadas no son aptas para su consumo debido a que se presentaron valores de contaminación superiores a los establecidos por las normativas; sumado a ello, se estableció la lechuga como el alimento con mayor nivel de coliformes, seguido del tomate y por último la cebolla, no se presentaron diferencias significativas entre supermercados ya que en general el nivel de contaminación entre todos fue muy similar, sin embargo dentro cada supermercado sí se evidenciaron diferencias significativas entre cada hortaliza.

Existen altos recuentos de coliformes totales, fecales y *Escherichia coli* en hortalizas que se comercializan y consumen crudas en la ciudad de Valledupar – Cesar, Colombia, lo que representa un riesgo para la salud pública y señala la necesidad de realizar vigilancia y control sobre las hortalizas que se consumen en la región objeto de estudio. El manejo

higiénico-sanitario de estos vegetales mejorará en la medida que se adquiera conciencia del origen de la contaminación y se establezcan acciones de vigilancia y control para reducir y/o eliminar este riesgo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvarado, K., Echeverry, L., Lizarazo, T., y García, A. (2017). Repercusión de las condiciones sanitarias y conductas de consumo de ensaladas en la aparición de patógenos causantes de enfermedades gastrointestinales en los Restaurantes Polo y La Novena, en Bogotá, Colombia. *Revista Electrónica Veterinaria*. Vol.18, 1-36.
- Arias, E. (2011). Enterobacteriaceae, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp. como parámetros en la verificación de las prácticas sanitarias agrícolas durante el manejo pos-cosecha de hortalizas en empresas exportadoras.
- Asociación Hortifrutícola de Colombia (ASOHOFRUCOL). (2016). Balance y perspectivas del sector hortifrutícola. *Frutas & hortalizas*. Vol. 33.
- Ávila, C., Sánchez, E., Muñoz, E., Martínez, L., y Villalobos, E. (2008). Diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México. *Revista Internacional de Botánica Experimental*. 77, 129-136.
- Carrillo, G. (2016). Determinación microbiológica y de metales pesados en lechuga de repollo (*Lactuca sativa*), expendidos en los diferentes mercados del distrito metropolitano de Quito.
- Elles, E., Salcedo, M., Muñoz, M., Y Mendoza, R. (2010). Validación de la técnica de recuento de coliformes totales y *E. coli* por el método filtración de membrana en el laboratorio de control de calidad de aguas de Cartagena S.A E.S.P. *ciencia y salud*. Vol. 2, 21-30.
- Food and Drug Administration (FDA). (2002) *Bacteriological analytical manual online* [página de internet]. Maryland: [fecha de acceso: julio 2018] Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>
- Galarza, J. (2017). Determinación de la concentración de elementos contaminantes y bacterias patógenas presentes en un sistema de agricultura urbana compuesto por hortalizas, implementado en la universidad politécnica salesiana sede Cuenca.
- García, L., Navas, M., Camacaro, L., Castro, T., Hernández, M., y Salinas, P. (2011). Contaminación por enteroparásitos en hortalizas expendidas en mercados de la ciudad de Mérida, Venezuela. *MedULA* 20, 124-127.

- González, C. (2014). Estudio microbiológico de muestras de hortalizas comercializadas en mercados públicos de San Salvador. *Minerva Revista en línea CIC-UES* vol. 4, 13-23.
- Guzmán, C., Rodríguez, V., y Calderón, A. (2017). Contaminantes microbiológicos en un mercado del sur de Montería: un riesgo para la salud pública. *Revista Ciencia y Agricultura*. Vol.14, 89-97.
- Hurtado, M., Sánchez, M., y Torija, M. (2008). Frutas y verduras fuentes de salud. *Revista Nutrición y Salud*, 1-84.
- Matos, A., y Chambilla, E. (2010). Importancia de la Fibra Dietética, sus Propiedades Funcionales en la Alimentación Humana y en la Industria Alimentaria. *Revista Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Vol.1, 4-17.
- Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural (MADR). (2015). **SECTOR HORTÍCOLA COLOMBIANO**.
- Muñoz, M. (2017). *Escherichia coli* O157:H7 en hortalizas de fundos agrícolas en la periferia de la ciudad de Lima – Perú.
- Ocaña, R., Gutiérrez, A., Sánchez, J., Mariezcurrena, M., Velázquez, G., Laguna, A., y Rojas, I. (2015). Calidad microbiológica del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) producido bajo condiciones de invernáculo en 5 Municipios del Estado de México. *Revista internacional de botánica experimental*. (84), 45-50.
- Organización Mundial de la Salud. (2017). Inocuidad de los alimentos.
- Pinto, N., De la Vega, J., y Cañarejo, M. (2016). Utilización del método de conservación bajo atmósferas controladas en frutas y hortalizas. *Agroind Sci* 6.
- Polo, G., Benavides, C., Astaiza, J., Vallejo, D., y Betancourt, P. (2016). Determinación de enteroparásitos en lechuga *Lactuca sativa* en fincas dedicadas a su producción en Pasto, Nariño, Colombia. *Biomédica*. 36(4).
- Puig, Y., Leyva, V., Rodríguez, A., Carrera, J., Molejon, P., Pérez, Y., y Dueñas, O. (2014). Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*; 12(1) ,111-119.

- Rivera, J., Rodríguez, C., y López, J. (2009). Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú. *Revista Peruana Medicina en Experimental en Salud*. 26(1), 45-48.
- Rodríguez, H., Barreto, G., Sedrés, M., Bertot, J., Martínez, S., y Guevara, G. (2015). Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *Revista Electrónica de Veterinaria*, vol. 16, 1-27.
- Torres, Y., Galindo, M., y Ramírez, G. (2017). Patógenos asociados a enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes escolares de Colombia. *Revista Chilena de Nutrición*. Vol. 44, 325-332.
- Varela, Z., Pérez, L., y Estrada, D. (2016). Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. *Revista Salud Uninorte*. Barranquilla. Vol. 32, 105-122.
- Vega M, Jiménez M, Salgado R, Pineda G. Determinación de bacterias de origen fecal en hortalizas cultivadas en Xochimilco de octubre de 2003 a marzo de 2004. *Invest univ Multidisciplinaria*. 2005; 4(4): 21-25.
- Vélez, A., y Ortega, J. (2013). Determinación de coliformes totales y *E. coli* en muestras de lechuga expandidas en cuatro mercados de la ciudad de Cuenca.
- Weiler, N., Orrego, M., Alvarez, M., Huber, C., Ortiz, F., Nuñez, N., Piris, L., y Perez, J. Primeros resultados de la vigilancia integrada de la resistencia antimicrobiana de patógenos transmitidos por alimentos, *Campylobacter spp.* y *Salmonella spp.* en tres poblaciones distintas. Paraguay. 2011-2012. *Revista Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*. Vol. 15, 64-72.

# UTILIZACIÓN DE LA NISINA COMO CONSERVANTE DE LA SALCHICHA TIPO PERRO BAJO CONDICIONES DE LA PLANTA PILOTO DE LA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR <sup>17</sup>

Laura Marcela Montenegro Borja <sup>18</sup>, Jenis Karina Moron Pertuz <sup>19</sup>, Franklin Mejía Padilla  
<sup>20</sup>, Rosmiro Elías Peña Córdoba <sup>21</sup>

## RESUMEN

Las tendencias mundiales del sector cárnico y sus derivados justifican la importancia de encontrar aditivos que mantengan las propiedades nutritivas del alimento con poca inclusión de químicos adversos a la salud. Se formularon, fabricaron y analizaron salchichas con carne de bovino empleando sal curante de nitrito y Nisina como conservantes, teniendo como objetivo general evaluación de la capacidad que tiene la nisina para destruir o inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos y deteriorativos. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones por tratamiento; el tratamiento testigo T0 con 200 ppm de sal curante de nitrito de sodio, el tratamiento T1 con 0 ppm de sal curante de nitrito y 25 ppm de nisina, el tratamiento T2 con 0 ppm de sal curante de nitrito y 12.5 ppm de nisina, y el tratamiento T3 con 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina; los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurión XVI, con un nivel de confianza del 95%. Los resultados microbiológicos de los microorganismo analizados están dentro de los parámetros permitidos por la norma excepto los aerobios mesófilos en los tratamientos T0 (200ppm de nitrito) estuvieron dentro de los rangos solo el día 0 de la muestra, los tratamientos T1, T2, T3, se mantuvieron estables el día 0 de la muestra, el día 10 y 20 tuvieron un incremento significativo que no se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 he indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. En general la vida útil del producto a los

---

<sup>17</sup> Derivado del proyecto de investigación: Utilización de la Nisina como Conservante de la Salchicha Tipo Perro Bajo Condiciones de la Planta Piloto de la Universidad Popular del Cesar

<sup>18</sup> Ingeniería Agroindustrial, Universidad Popular del Cesar. Institución, correo electrónico: [lmobo19@gmail.com](mailto:lmobo19@gmail.com)

<sup>19</sup> Ingeniería Agroindustrial, Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: [ymoronpertuz@yahoo.com](mailto:ymoronpertuz@yahoo.com)

<sup>20</sup> Ingeniero de alimentos. Docente, Grupo de investigación Parasitología Agroecología Milenio. Universidad Popular del Cesar. [rosmiropena@unicesar.edu.co](mailto:rosmiropena@unicesar.edu.co).

<sup>21</sup> Ingeniero Agrónomo, Maestría en educación Universidad del Norte. Docente Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: [franklinmejia@unicesar.edu.co](mailto:franklinmejia@unicesar.edu.co)

30 días de almacenamiento no tuvo un comportamiento aceptable según la cantidad de microorganismos mostrado en los análisis microbiológicos ya que en los aerobios mesófilos aumentaba la carga microbiana al pasar de los días. Se demostró que la cantidad de Nisina no fue suficiente para inhibir el crecimiento de los aerobios mesófilos, debido a esto se observó un crecimiento progresivo en el producto.

**PALABRAS CLAVE:** Salchicha, formulación, nitrito de sodio

#### **ABSTRACT**

Sausages with bovine meat are formulated, manufactured and analyzed using nitrite and Nisin curative salt as preservatives, having as a general objective "the ability of nisin to destroy or inhibit the development of pathogenic and deteriorating microorganisms". It is a completely randomized design with four treatments and three repetitions per treatment; T0 control treatment with 200 ppm of sodium nitrite curative salt, T1 treatment with 0 ppm of nitrite curative salt and 25 ppm of nisin, T2 treatment with 0 ppm of nitrite curative salt and 12.5 ppm of nisin, and T3 treatment with 15 ppm nitrite curative salt and 15 ppm nisin; Statistical analyzes were analyzed with the Centurion XVI Statistics program, with a 95% confidence level. The microbiological results of the microorganisms analyzed are within the parameters allowed by the standard except for mesophilic aerobes in T0 treatments (200ppm of nitrite) located within the ranges only on day 0 of the sample, treatments T1, T2, T3, they remained stable on day 0 of the sample, on day 10 and 20 they had a significant increase that is not within the ranges allowed by NTC 1325 and indicated by the national institute of drug and food surveillance, INVIMA. In general, the shelf life of the product after 30 days of storage did not have an acceptable behavior according to the amount of microorganisms shown in the microbiological analysis since in the mesophilic aerobes the microbial load increased over the days. It was shown that the amount of Nisin is not sufficient to inhibit the growth of mesophilic aerobes, because this is a progressive growth in the product.

**KEYWORDS:** Sausage, formulation, sodium nitrite

## INTRODUCCIÓN

Existe últimamente una importante tendencia por parte de los consumidores de preferir y reclamar alimentos naturales con poco procesamiento y sin uso de conservantes sintéticos o no naturales (Rodríguez-Espinosa, Restrepo-Betancur y Urango 2015). Siguiendo esta tendencia se ha tenido como resultado el interés y la apuesta en práctica de planificar y desarrollar alimentos con conservantes naturales que no sean nocivos para la salud del consumidor que cumplen con parámetros de óptima calidad y que tengan la aceptación de las normas vigentes de cada país para poder conseguir la seguridad microbiológica en el proceso de elaboración, comercialización y consumo por presentar alto espectro de efectividad contra los microorganismos patógenos y deteriorativos (Olmedilla-Alonso y Jiménez-Colmenero, 2014).

La industria alimentaria ha desarrollado la aplicación de bacteriocinas producto del metabolismo secundario de algunas bacterias ácido lácticas (BAL) en la conservación de los alimentos. Las bacteriocinas se pueden definir como péptido de origen proteínico que a bajas concentraciones presentan inhibiciones microbiológicas efectivas (Beristain-Bauza, Palou y López-Malo, 2012)). Algunas BAL productoras de bacteriocinas han sido aisladas de alimentos como la carne y los productos lácteos, además se utilizan en la fermentación de algunos alimentos como iniciadores de los procesos fermentativos. Las BAL y/o bacteriocinas pueden ser utilizadas como conservadores biológicos puro que en algunos procedimientos podrían reemplazar a los conservadores sintéticos (Motta y Brandelli, 2008).

Muchas bacteriocinas son efectivas contra microorganismo patógeno que pueden generar enfermedades transmitidas por alimentos, *Listeria Monocytogenes*, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* y *Salmonella spp*, (Wa, et al, 2004, Jeevaratnam et al, 2005), sin embargo, solo la nisina ha sido aprobada legalmente por su uso en alimento por la administración de alimentos y cosméticos, FDA (por sus siglas en inglés) en la categoría generalmente como seguras GRAS (por su sigla en inglés) (Drider et al., 2006; Millete et al., 2008).



## MATERIAL Y MÉTODOS

Este proyecto se realizó en la ciudad de Valledupar Departamento del Cesar, Colombia; la elaboración de salchicha perro, análisis fisicoquímicos y microbiológicos se desarrollaron en la planta piloto de carnes y en el centro de investigación para el desarrollo ingeniería (CIDI), laboratorios de microbiología respectivamente en la Universidad Popular del Cesar.

Este trabajo se enfocó en una investigación cuantitativa, ya que recoge, procesa y analiza datos cuantitativos o numéricos sobre variables previamente determinadas. Se realizaron las respectivas pruebas de laboratorio se evaluaron y analizaron los resultados que se obtuvieron, se compararon con la normatividad nacional de Colombia, lo cual, permitió emitir un juicio al respecto.

Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar, con 4 tratamientos y 3 repeticiones. Para cada repetición de los tratamientos se elaborarán aproximadamente 3 Kg de producto.

El diseño del tratamiento que se desarrolló para evaluar el comportamiento de las bacteriocinas y específicamente la nisina sobre microorganismos patógenos y alterantes de la salchicha tipo perro empleado como bioconservantes, comparándolas con las sales provenientes del ácido nítrico tales como el nitrito sódico en dosis normatizadas por la legislación colombiana y la FDA, teniendo en cuenta la incidencia que las diferentes dosis utilizada en la presente investigación tienen sobre las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y de aceptación tienen sobre la salchicha tipo perro propuesta en la investigación a desarrollar; además incluye la formulación del producto, según lo siguiente:

Tabla 2  
Diseño experimental

Tratamiento	Nitrito de sodio (ppm)	Nisina (ppm)	Contenido de grasa (%)	Agua/hielo (%)	repeticiones
T0 (TESTIGO)	200*	-	20	20	R1,R2,R3
T1	-	25	20	20	R1,R2,R3
T2	-	12.5	20	20	R1,R2,R3
T3	15	15	20	20	R1,R2,R3

\*El producto elaborado con 200 ppm de nitrito de sodio sirve como tratamiento de control.

Los análisis microbiológicos se realizaron siguiendo la norma ICONTEC 1325 quinta actualización.

## RESULTADOS

Recuento de aerobios mesófilos UFC/g: La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es por condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento. Estos tipos de microorganismos y el recuento que se hace de ellos se consideran como indicador del grado de contaminación de los alimentos etapa del proceso de producción, permite también obtener información sobre la alteración inicialmente de los alimentos y su probable vida útil. El número de colonias encontradas para cada uno de los tratamientos T0, T1, T2, T3. Ver Cuadro 1. Los resultados obtenidos muestran que los aerobios mesófilos en los tratamientos T0 (200ppm de nitrito) estuvieron dentro de los rangos solo el día 0 de la muestra, los tratamientos T1, T2, T3. Se mantuvieron estables el día 0 de la muestra, el día 10 y 20 tuvieron un incremento significativo que no se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 he indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. El día 30 tuvo un descenso significativo, pero no se mantuvieron dentro del rango permitido.

Los aerobios mesófilos son microorganismos que viven en presencia de oxígeno a temperaturas de rango medio, un crecimiento elevado de ellos puede significar excesiva contaminación de la materia prima, deficiente manipulación y la inmediata alteración de patógenos.

El tratamiento con nisina tiene su acción microbiana directa sobre una amplia gama de organismos Gram positivos (Arguello, 2003), posiblemente el crecimiento de microorganismos aerobios en este tratamiento correspondió a los Gram negativos, donde el tratamiento nisina no tiene efecto (Frazier y Westhoff, 1985).

- *Bacillus cereus* UFC/g: La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es por la inadecuada calidad higiénica, refrigeración, disminución de pH y el almacenamiento. El número de unidades formadoras de colonias de *Bacillus cereus*, en los tratamientos T0, T1, T2, T3, ver cuadro 1. Tuvieron el mismo comportamiento

ante este microorganismo, pudo influir que estos productos se sometieron a adecuados procesos de cocción, manipulación y conservación. Por esto, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. Los resultados demuestran que el conservante natural nisina, tuvo el mismo efecto antimicrobiano que el conservante artificial (nitrito de sodio).

- NMP Coliformes totales/g: La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es signo de mala calidad higiénica en el proceso, falta de higiene de los manipuladores, recontaminación después del proceso. El número más probable de Coliformes totales en los tratamientos T0, T1, T2, T3. Según el reporte dado por los análisis que se hicieron al producto antes y al final del almacenamiento, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. Por lo cual es signo de que hubo una buena calidad higiénica en el proceso, en los manipuladores y durante el tratamiento térmico, y muestra que se empleó materia prima de buena calidad higiénico-sanitaria, al igual que los demás materiales empleados en la fabricación del producto estudiado.
- NMP Coliformes termotolerantes/ g: La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es signo de mala calidad higiénica en el proceso, contaminación del agua, falta de higiene de los manipuladores, recontaminación después del proceso. Los análisis de estos microorganismos se utilizan para diferenciar los coliformes termotolerantes (procedentes del intestino del hombre y de animales de sangre caliente) de los coliformes de otros orígenes. El número más probable de coliformes termotolerantes en los tratamientos T0, T1, T2, T3. Tuvieron el mismo comportamiento ante este microorganismo, pudo influir que hubo una buena manipulación higiénica en el producto, la buena manipulación durante el proceso de elaboración, buena calidad sanitaria. Por esto, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. Los resultados demuestran que el comportamiento sobre la acción de estos microorganismos resulta semejante

utilizar un conservante natural como la Nisina, que el conservante artificial nitrito de sodio.

- Recuento de *Estafilococo coagulasa positiva*, UFC/g: La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es la falta de higiene durante el proceso de elaboración del alimento, deficientes prácticas higiénicas de los manipuladores, diseño inadecuado de los procesos de limpieza y desinfección o inadecuados productos utilizados durante estos procesos. El número de unidades formadoras de colonias de Estafilococos coagulasa positiva, en los tratamientos T0, T1, T2, T3, tuvieron comportamientos similares, pudo influir que los manipuladores utilizaron unas buenas prácticas de manipulación en el alimento, lo cual hizo que no hubiera una contaminación a partir de piel, boca, y fosas nasales. A demás de trabajar con los equipos bien desinfectados y una materia prima de buena calidad.

Por esto, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 he indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. Los resultados demuestran que la nisina tiene un efecto inhibidor respecto al *estafilococo coagulasa* pudiendo predecir que es prudente el empleo de este conservante natural como remplazante parcial o total del nitito de sodio.

Otros autores, que han estudiado el efecto de la nisina sobre el crecimiento de estos géneros microbianos en otros alimentos, han obtenido resultados similares. La nisina inhibe el crecimiento de *Staphylococcus caagulasa positivo* y *Salmonella sp* en carne de cangrejo (De Lima & Gorlach-Lira, 2005); impide el desarrollo de *Staphylococcus* en queso de mano preservado con este antibiótico natural.

- Detección de *Salmonella sp*, /25 g: La presencia de estos microorganismos en productos procesados térmicamente, indica tratamiento inadecuado o contaminación post proceso. La detección de salmonella, en los tratamientos T0, T1, T2, T3, tuvieron comportamientos similares, pudo influir que en el proceso térmico hubo un tratamiento adecuado por lo que no presento una contaminación durante y posterior al almacenamiento. Por lo cual, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 he indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. Los resultados demuestran que el

conservante artificial (nitrito de sodio), puede ser reemplazado por el conservante natural como la Nisina, ya que este es inocuo al ser humano.

Maldonado & Llanca, 2007 encontraron que el queso “telita” tratado con nisina, no se detectó *Salmonella* ni *L. monocytogenes*, y las cantidades de *Staphylococcus* presentes fueron significativamente menores que en el control no tratado.

En general se puede decir que, en el periodo de conservación de la salchicha, se identificó una carga microbiana ascendente en el tiempo de aerobios mesófilos, tanto en el control como en los tres tratamientos, siendo las salchichas elaboradas con 15 ppm de Nisina las que presentan una mayor carga bacteriana, importante resaltar que el recuento de heterótrofos o aerobios mesófilos superaron los límites máximos permitidos por la NTC 1325, (2008).

Tabla 3  
Resultados de los análisis microbiológicos.

Parámetro	Limite	Día	T <sub>0</sub>	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	Norma
Recuento de aerobios mesófilos, UFC/g	<1E <sup>5</sup>	0	1E <sup>4</sup>	4,5E <sup>5</sup>	4,5E <sup>5</sup>	4,5E <sup>5</sup>	100.000 UFC/g (NTC 1325)
			9E <sup>3</sup>	4,8E <sup>5</sup>	4,4E <sup>5</sup>	4,7E <sup>5</sup>	
		10	1,4E <sup>3</sup>	7,1E <sup>5</sup>	6,1E <sup>6</sup>	6,9E <sup>5</sup>	
			1,3E <sup>3</sup>	6,9E <sup>5</sup>	6E <sup>6</sup>	6,6E <sup>5</sup>	
		20	3E <sup>5</sup>	8,8E <sup>5</sup>	8,4E <sup>5</sup>	9E <sup>6</sup>	
	3,6E <sup>4</sup>	8,4E <sup>5</sup>	7,7E <sup>5</sup>	8,3E <sup>5</sup>			
	5E <sup>5</sup>	4E <sup>6</sup>	4E <sup>6</sup>	5E <sup>6</sup>			
	4,4E <sup>4</sup>	6,6E <sup>5</sup>	5,5E <sup>5</sup>	5,4E <sup>5</sup>			
NMP Coliformes totales /g	100-500	0	<3	<3	<3	<3	100-500/g (NTC 1325)
		10	<3	<3	<3	<3	
		20	<3	<3	<3	<3	
		30	<3	<3	<3	<3	
NMP Coliformes termotolerantes /g	<3/g	0	<3	<3	<3	<3	< 3/g (NTC 1325)
		10	<3	<3	<3	<3	
		20	<3	<3	<3	<3	
		30	<3	<3	<3	<3	
Recuento de <i>Estafylococo coagulasa</i> positiva, UFC/g	<100	0	<100	<100	<100	<100	<100 UFC/g (NTC 1325)
		10	<100	<100	<100	<100	

		20	<100	<100	<100	<100	
		30	<100	<100	<100	<100	
		0	<100	<100	<100	<100	
<b>Bacillus cereus</b> UFC/g	<b>&lt;100</b>	10	<100	<100	<100	<100	<100 UFC/g (NTC 1325)
		20	<100	<100	<100	<100	
		30	<100	<100	<100	<100	
		0	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	
<b>Detección de</b> <b>Salmonella, /25</b> <b>g</b>	<b>Ausencia</b>	10	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENCIA 25/g (NTC 1325)
		20	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	
		30	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	
			Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El uso de la Nisina como conservante, es responsable de la inhibición de Coliformes Totales, termotolerantes y el aumento progresivo de Aerobios Mesófilos, consiguiéndose mejores resultados el Tratamiento T0 con 200 ppm de sal curante de nitrito al día 0 de la muestra, a medida que aumentan el tiempo de almacenamiento del producto incrementa la carga microbiana. El recuento de aerobios mesófilos es un indicador de salubridad de los alimentos.

Al aplicar la Nisina actúan como conservador, evitando la rápida proliferación de microorganismos excepto los aerobios mesófilos, que no se mantuvieron dentro del rango permitido.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Beristain-Bauza, S. C., Palou, E. López-Malo, A. (2012). Bacteriocinas: antimicrobianos naturales y su aplicación en los alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. Vol. 6 - 2 64 – 78
- Drider, D., Fimland, G., Héchard, Y., McMullen, L. M., & Prévost, H. (2006). The continuing story of class IIa bacteriocins. *Microbiology and molecular biology reviews*, 70(2), 564-582.
- Rodríguez-Espinosa, H., Restrepo-Betancur, L. F. y Urango, L. A. (2015). Preferencias y frecuencia de consumo de derivados cárnicos por parte de estudiantes universitarios de Medellín, Colombia. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*. 19(4), p. 204-211.
- O'flynn, C. et al. (2014) The application of high-pressure treatment in the reduction of salt levels in reduced-phosphate breakfast sausages. *Meat Science*, 2014, 96(1), p. 633–639.
- Olmedilla-Alonso, B., y Jiménez-Colmenero, F. (2014). Alimentos cárnicos funcionales: desarrollo y evaluación de sus propiedades saludables. *Nutrición Hospitalaria*, 29(6), p. 1197-1209.
- Millette, M., Dupont, C., Shareck, F., Ruiz, M. T., Archambault, D., & Lacroix, M. (2008). Purification and identification of the pediocin produced by *Pediococcus acidilactici* MM33, a new human intestinal strain. *Journal of applied microbiology*, 104(1), 269-275.
- Motta, A. S., & Brandelli, A. (2008). Evaluation of environmental conditions for production of bacteriocin-like substance by *Bacillus* sp. strain P34. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24(5), 641-646.
- Instituto Colombiano De Normas Técnicas (2008). Norma 1325. Productos cárnicos elaborados procesados, Quinta actualización

# BIOCONSERVACIÓN MEDIANTE LACTOBACILLUS PLANTARUM, LACTOCOCCUS LACTIS Y LACTOCOCCUS CREMORIS EN CHORIZOS ELABORADOS ARTESANALMENTE EN EL MERCADO PÚBLICO DE LA CIUDAD DE VALLEDUPAR <sup>22</sup>

Shellsyn Giraldo <sup>23</sup>, Ingrid Pino <sup>24</sup>, Malory Pérez <sup>25</sup>, Karina Rodríguez <sup>26</sup>

## RESUMEN

En la industria cárnica es bien conocida la utilización de compuestos inorgánicos específicamente los nitratos y nitritos como conservantes. Estos compuestos son convertidos, debido a ciertos factores, en sustancias cancerígenas llamadas nitrosaminas, lo cual incentiva la búsqueda de metodologías alternativas para conservar este tipo de alimentos. Así, la conservación mediante bacterias ácido-lácticas se presenta como una opción interesante para garantizar la calidad microbiológica, reemplazar el uso de conservantes químicos y mejorar las características sensoriales y nutricionales de dichos productos. El objetivo de este estudio fue establecer el potencial de un bioconservante a base de *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris* como alternativa a la adición de nitratos y nitritos en chorizos artesanales elaborados en el mercado público de la ciudad de Valledupar. Se utilizó diseño completamente al azar con tres tratamientos a diferentes concentraciones y un tratamiento control almacenado a 4 °C durante dos semanas. Se realizaron recuentos de coliformes totales, *E. coli*, esporas sulfito reductoras y búsqueda de *Salmonella sp.* y *Listeria monocytogenes* por microbiología tradicional, e igualmente se hizo medición de pH, ácido láctico y análisis sensoriales. Se demostró el efecto antagónico que genera el bioconservante sobre la flora patógena del chorizo debido a la ausencia de *Salmonella sp.* y *Listeria*

---

<sup>22</sup> Derivado del proyecto de investigación: Bioconservación Mediante *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris* como alternativa a la adición de nitratos y nitritos en chorizos elaborados artesanalmente en el mercado público de la ciudad de Valledupar

<sup>23</sup> Microbióloga con Énfasis en Alimentos, Universidad de Pamplona, MSc en Microbiología, Universidad del Zulia, Docente, Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: shellsyngiraldo@unicesar.edu.co.

<sup>24</sup> Bacterióloga, Universidad Metropolitana, Posgrado, Institución, Docente, Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: ingridpino@unicesar.edu.co.

<sup>25</sup> Microbióloga, Universidad Popular del Cesar.

<sup>26</sup> Microbióloga, Universidad Popular del Cesar.



*monocytogenes* y disminución en los recuentos de coliformes, asimismo favoreció las características organolépticas generando la aceptación del producto.

**PALABRAS CLAVE:** Chorizos artesanales, bioconservante, bacterias ácido lácticas, aceptabilidad.

## **ABSTRACT**

In the meat industry there is well-known the utilization of inorganic compounds specifically the nitrates and nitrites as preserving. These compounds are turned, due to certain factors, into carcinogenic substances so called nitrosamines, this stimulates to the search of alternative methodologies to preserve this type of food. One of the technologies that is taking summit is the biopreserving by means of bacteria acid - lactic who appears as an interesting option to guarantee the microbiological quality, to replace the use of preserving chemists and to improve the sensory and nutritional characteristics of the above mentioned products. The aim of this study was to establish the potential of a biopreserving based on *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* and *Lactococcus cremoris* as an alternative to the addition of nitrates and nitrites in handcrafted sausages elaborated in the public market of Valledupar's city, using a design completely at random with three treatments to different concentrations and a treatment control stored to 4 °C for two weeks. There were realized inventories of total coliforms, *E. coli*, *sulphite-reducing spores* and search of *Salmonella sp.* and *Listeria monocytogenes* for traditional microbiology, measurement of pH, lactic acid, and sensory analyses. There was demonstrated the antagonistic effect that the biopreserving generates on the pathogenic flora of sausage due to the absence of *Salmonella sp.* and *Listeria monocytogenes* and decrease in coliform inventories, likewise it favoured the characteristics organoleptic generating the acceptance of the product.

**KEYWORDS:** Handcrafted sausages, biopreserving, bacteria acid lactic, acceptability

## INTRODUCCIÓN

La utilización de los nitratos y nitritos en los productos cárnicos ha sido seriamente cuestionada por los problemas para la salud que pueden desencadenar. Entre estos problemas se encuentran la destrucción de los glóbulos rojos, la capacidad de provocar accidentes vasculares y ser potencialmente cancerígenos (Antón y Lizaso 2010). Otros síntomas de envenenamiento por la ingesta de estos aditivos pueden ser: asma, dolor de cabeza, hipertensión, hipotensión, mareos, náuseas, desoxigenación de la sangre y colapso circulatorio, pulso irregular, vértigos, debilidad muscular y gastroenteritis con dolor abdominal. Junto con la hipertensión, el mayor peligro de los nitratos y nitritos está en su potencial cancerígeno. Parece existir una asociación clara entre consumo de carnes procesadas y riesgo de cáncer colorrectal, que se ha llegado a cuantificar en un incremento del 50% para una ingesta diaria de 25 g de este tipo de carne. Se especula que este riesgo es debido a la presencia de nitrosaminas en la carne curada (Rodrigo y Riestra 2007).

De hecho, las nitrosaminas son consideradas uno de los más potentes cancerígenos capaces de provocar cáncer de hígado, riñón, cerebro, pulmón, estómago, intestino, esófago, lengua, vejiga y nariz. Existen muy pocas sustancias cancerígenas que ataquen a tantos órganos con la virulencia con que lo hacen las nitrosaminas. A pesar de todo esto, el uso de estas sustancias en los embutidos sigue siendo ampliamente utilizado y esto parte del poder bactericida que presentan contra microorganismos de elevada patogenicidad como *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*, entre otras (Quingatuña 2009).

En la actualidad, se han identificado serios problemas relacionados directamente con las limitadas formas de conservación de los alimentos frescos, sumado al hecho de la continua exigencia de disminuir y prohibir cada vez más el uso de preservantes y aditivos químicos en los alimentos, debido a los efectos adversos que pueden causar en la salud del consumidor. Esto obliga a la búsqueda de metodologías alternativas para conservar los alimentos (Vásquez, Suarez y Zapata 2009). La composición química de la carne fresca y sus características biológicas, permiten el desarrollo de microorganismos deteriorantes y patógenos, que disminuyen el tiempo de vida útil y algunos producen intoxicaciones. En este sentido se han desarrollado procedimientos complementarios de conservación, que, junto con

el uso de la refrigeración, consiguen aumentar la vida útil y garantizar la calidad sanitaria de la carne fresca (Vásquez, Suarez y Zapata 2009).

En la ciudad de Valledupar se presenta un consumo elevado de embutidos, (el 60% de la población lo consumen tres veces por semana) específicamente de chorizos elaborados artesanalmente; los cuales son conservados con nitratos y nitritos. La cantidad en gramos que se agrega de estas sustancias a los chorizos artesanales no está estandarizada. Además, estos alimentos son una fuente de transmisión de enfermedades debido a las deficientes prácticas de higiene al momento de la preparación, producción y almacenamiento.

El objetivo de la presente investigación fue analizar el comportamiento de un bioconservante utilizando bacterias ácido-lácticas en distintas concentraciones y determinar su potencial como alternativa al uso de los conservantes químicos actualmente empleados. El estudio de la efectividad del bioconservante en esta investigación y sus posibles resultados positivos, podrían proporcionar datos e información relevante para la obtención de un producto comercial, patentado y registrado, donde quedarían demostrados los conocimientos adquiridos a lo largo de nuestra carrera. Además, con estos mismos resultados se ayudaría de cierta manera a los sectores implicados a tomar decisiones para mejorar e impulsar el desarrollo industrial, pero pensando principalmente en el bienestar de la población consumidora.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Muestra óptima de trabajo y diseño experimental. Teniendo en cuenta las normas de bioseguridad, se tomaron 4 kg de pasta de chorizo elaborada con carne bovina, verduras y condimentos, transfiriéndose por kilo en bolsas plásticas estériles y refrigerándose en una cava a temperatura de 4 °C. El diseño experimental empleado fue un diseño completamente al azar; se realizaron cuatro tratamientos (T1, T2, T3 y T4), donde T1 es la muestra control, y T2, T3, y T4 son las muestras tratadas con el bioconservante a distintas concentraciones.

Las cepas utilizadas en este estudio fueron obtenidas del Centro Agro Lechero. Se empleó un cultivo liofilizado de *Lactobacillus plantarum* en presentación de 5 g, así como un cultivo mixto de *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris*, en cultivo liofilizado en presentación de 5 g. Los cultivos fueron rehidratados con agua destilada estéril antes de su

uso. Para obtener el bioconservante se emplearon 23 ml de agua destilada estéril para disolver la cantidad de cultivo liofilizado establecido para cada tratamiento (Rodríguez 2011).

Se usaron concentraciones empleadas por Rodríguez (2011), cuyos resultados fueron satisfactorios. Las tres concentraciones utilizadas fueron T2: 1g/kilogramo; T3: 1.5 g/kilogramo; T4: 2g/kilogramo; T1 fue la muestra control, por lo tanto, no llevó bioconservante sino la sal curante utilizada normalmente.

Para la inoculación de los cultivos bacterianos en los chorizos, se añadió el bioconservante a 3 Kg (T2, T3 Y T4) de pasta de chorizo elaborada con carne de res. Se mezcló manualmente muy bien para la lograr la incorporación del bioconservante en la pasta de chorizo. Luego se utilizó una embudidora para introducir la pasta en tripas de origen porcino. Posteriormente se colocaron durante 10 minutos a vapor de agua y se dejaron en reposo por 30 minutos para luego refrigerarlos a  $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 2 semanas. El kilogramo de pasta de chorizo restante se utilizó como muestra control, por lo tanto, no se le adicionó bioconservante sino la sal curante utilizada normalmente (Pérez, 2011, p.2).

Se realizaron análisis microbiológicos de los tratamientos y de la muestra control a los 0, 7 y 15 días de almacenamiento, para llevar a cabo recuentos de coliformes totales, *E. coli* (UFC/gr.), recuento de esporas de *Clostridium sulfito reductor* (UFC/gr.), presencia o ausencia de *Salmonella sp.*, y *Listeria monocytogenes* (presencia o ausencia), según los procedimientos estandarizados por el Instituto de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos INVIMA. Todos los ensayos se realizaron por triplicado.

Se establecieron los parámetros fisicoquímicos de pH y producción de ácido láctico en la muestra control y en los tres tratamientos al inicio, durante y al final del proceso de fermentación. La medida de pH de los cuatro tratamientos se realizó a los 0, 7 y 15 días del periodo de almacenamiento. (Pérez, 2011, p.2). Para esto se pesaron 10 gr de muestra en la balanza analítica, se maceró en una capsula de porcelana y se midió el pH con un pHmetro.

Para obtener el porcentaje de ácido láctico se realizaron análisis de acidez titulable a los tratamientos T2, T3, T4 y en la muestra control a los 0, 7 y 15 días de almacenamiento, (Pérez, 2011). Este procedimiento se llevó a cabo según lo descrito por Rodríguez (2011). Los resultados se expresaron en porcentaje de acidez en función del ácido láctico y se calcularon empleando la siguiente ecuación:

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{a \times N \times \text{meq}}{b} \times 100$$

Donde a = volumen en ml consumido de solución de NaOH 0.1 N; N = Normalidad de la solución de NaOH; meq = Masa molar expresada en g/mmol. Para el ácido láctico, meq= 0.090 g/mmol; b = Masa en gramos de la muestra en la alícuota valorada, determinado con la siguiente ecuación:

$$b = \frac{m \times V}{250}$$

Donde m = Masa inicial de la muestra (g); y V = Volumen de alícuota tomada (ml).

Por último, se midieron las características organolépticas (color, sabor, textura) y la aceptabilidad de los chorizos al inicio (con conservante químico) y al final de la fermentación con el bioconservante más efectivo, mediante la opinión de 13 catadores, los cuales fueron personas del común. La prueba de aceptación se llevó a cabo en dos sesiones: el tratamiento control (T1) se evaluó al inicio de la etapa de almacenamiento y el tratamiento más efectivo (T3) al final de la etapa de almacenamiento. Cada muestra consistió en 25 g de las cuales se evaluaron los 3 atributos (color, sabor y textura) y la aceptabilidad (Cruz 2011).

Los datos experimentales se analizaron mediante ANOVA ( $P < 0.05$ ), la prueba de DUNNET (nivel de significancia de 5%) y la prueba confirmatoria no paramétrica de Kruskal-Wallis.

## RESULTADOS

A continuación, se describen los aspectos microbiológicos de la muestra control (con conservante químico) y de los tratamientos adicionados. En cuanto a la evaluación de los coliformes totales en sus cuatro tratamientos durante el periodo de almacenamiento, se observó que el tratamiento control (T1), presentó recuentos altos de estos patógenos al igual que el tratamiento dos (T2), mientras que el tratamiento 3 (T3) tuvo un comportamiento distinto mostrando una disminución considerable en el número de colonias. Por el contrario, el tratamiento cuatro (T4) presentó el mayor recuento de colonias, siendo este el tratamiento más contaminado.

Se observó que el conservante químico utilizado en el tratamiento control (T1) tuvo mayor efectividad durante la primera semana evidenciándose una reducción en el efecto protector en la siguiente semana, dando lugar a la proliferación de estos microorganismos patógenos. Esto se explica con lo planteado por Antón y Lizaso (2010) quien afirma que, al agregar los nitritos y nitratos a los chorizos, los nitritos actúan de forma inmediata mientras que los nitratos se mantienen como reserva para ser convertidos a nitritos por acción del ambiente. Sin embargo, la flora nativa acelera el proceso de conversión agotando rápidamente la reserva del conservante y dejando el chorizo desprovisto de protección.

El tratamiento tres (T3) con 0.1 g de bioconservante mostró un rango de inhibición mayor que el tratamiento cuatro (T4) que contenía 0.3 g de bioconservante. Debido a que en cada uno de los tratamientos se utilizó un kg de sustrato (pasta de chorizo) el T4 presentó mayor población patógena que el T3, puesto que al tener mayor cantidad de cultivo iniciadores los nutrientes del sustrato se agotaron más rápidamente, desencadenando la disminución de estos microorganismos y la proliferación de patógenos, tal como lo reporta Rodríguez (2011).

Los resultados para la población *Escherichia coli* en los tratamientos con bioconservante fue muy inferior con respecto al tratamiento control, resaltando que en los tratamientos dos y tres no hubo crecimiento de este, lo que muestra el efecto protector que el bioconservante confiere a los chorizos frente a este patógeno.

Al observar el comportamiento de las esporas de *Clostridium* en el muestreo tres realizado al final del periodo de almacenamiento, se pudo comprobar que en los muestreos

uno y dos realizados al inicio y mitad del almacenamiento no se evidenció el crecimiento de esporas en ninguno de los tratamientos.

También se puede determinar que los chorizos no presentaron contaminación por *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*. La fuente principal de contaminación con *Salmonella spp.* son las heces de animales y humanos (Ortega et al. 2008), mientras que el principal reservorio de *L. monocytogenes* lo constituyen animales (principalmente ganado bovino, porcino y ovino) (Cisternas et al. 2002).

La cadena de producción de este alimento presenta varios puntos críticos, como son el sacrificio, la manipulación, falta de elementos de protección personal, transporte entre otros. La ausencia de este microorganismo en los chorizos se atribuye a la correcta manipulación, transporte, almacenamiento y procesamiento que se le dio al producto durante el experimento, así la actividad antagónica ejercida por las bacterias lácticas. Estos resultados coinciden con los de Hudault et al. (citado por Jurado et al. 2009) quienes encontraron que las bacterias lácticas presentaron inhibición frente a *Salmonella spp.* y *Listeria monocytogenes*. Según Bolívar (citado por Jurado et al. 2009) esta inhibición se debe a la producción de ácidos orgánicos, como el láctico; peróxido de hidrógeno, y bacteriocinas.

Para los aspectos fisicoquímicos en la muestra control y en los tres tratamientos con el bioconservante, se pudo observar que, al medir los valores de pH de cada tratamiento durante los tres muestreos, se observó que el T1 arrojó los niveles de pH más altos presentando una media de 6.1, el T2 y T4 presentaron ambos una media de 5.9, mientras que la mayor reducción se obtuvo en el T3 con una media de 5.5. En consecuencia, la reducción del pH en T3 influyó de manera positiva inhibiendo la carga patógena, esto se sustenta con lo planteado por Guerrero y Taylor (citado por Minor et al. 2002) quienes mencionan que uno de los principales mecanismos de inhibición de la flora patógena es la reducción de pH por la producción de ácido láctico, que al disociarse en la superficie cárnica genera iones H<sup>+</sup>.

Mientras que la producción de ácido láctico se vio favorecida en el T3, siendo consecuente con la reducción del pH descrita anteriormente. El comportamiento de la acidez durante el almacenamiento presentó una curva decreciente, ya que los niveles más altos se observaron la primera semana con una posterior disminución hacia el final del almacenamiento. Estos resultados se pueden comparar con los expuestos por Minor et al. (2002) donde la producción de ácido láctico presentó un incremento constante hasta las 48 h

de almacenamiento y durante el período posterior se observa una reducción en la concentración de este ácido orgánico. Además, refieren que algunas levaduras y bacterias pueden utilizar el ácido láctico como fuente de carbono cuando no hay carbohidratos fermentables.

En la evaluación de las características organolépticas (color, sabor, textura) y la aceptabilidad de los chorizos, para el color se realizó el análisis sensorial al inicio de la fermentación con el T1 y al final del almacenamiento con el tratamiento que mostro mejor resultados (T3).

Para el T1 se obtuvieron apreciaciones que van desde la escala 1 (nada intenso hasta la 5 (muy intenso). El mayor número de personas (38 %) de los catadores se inclinaron por la escala 5 “muy intenso”. Por otra parte, para el T3 se obtuvieron apreciaciones que van desde la escala 2 (poco intenso), hasta la 5 (muy intenso). El mayor número de personas (38%) de los catadores se inclinaron por la escala 4 “Intenso”.

La intensidad del color más que a la acción de los microorganismos iniciadores se atribuye a que la cantidad de Achiote que se agrega a este alimento en el sitio de elaboración no cumple con una medida específica. El análisis de varianza a un nivel de confianza del 95%, señala que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos percibida por los catadores.

Al evaluar el sabor, se obtuvieron apreciaciones que van desde la escala 3 (ni gusta ni disgusta), hasta la 5 (gusta mucho). Para el T1 el mayor número de personas (54 %) de los catadores se inclinaron por la escala 3 “ni gusta ni disgusta”, lo que muestra que el sabor no tuvo diferencias especiales con respecto a los chorizos artesanales que se comercializan en la ciudad de Valledupar.

En el T3 el mayor número de personas se inclinaron por la escala 4 “gusta” (46%), además este fue el tratamiento que obtuvo mayor puntuación en la escala 5 “gusta mucho”. Se puede decir que la adición del bioconservante proporcionó un valor agregado a este tratamiento, puesto que el proceso de fermentación se generan ácidos orgánicos que favorecen este atributo (Cástulo et al., 2008).

En cuanto a la textura de los chorizos, para el T1 se obtuvieron apreciaciones que van desde la escala 2 (blanda), hasta la 4 (dura). El mayor número de personas (10 %) de los catadores se inclinaron por la escala 4 “dura”, este tipo de textura no hizo el producto muy



atractivo. Para el T3 se obtuvieron apreciaciones que van desde la escala 2 (blanda), hasta la 3 (Ni dura ni blanda). El mayor número de personas (10 %) de los catadores se inclinaron por la escala 2 “Blanda”, cuya apreciación es positiva debido a que es una característica típica de un producto de buena calidad.

Este atributo es favorecido por los microorganismos iniciadores. León et al. (2006) afirma que los cultivos iniciadores juegan un papel importante en la conservación de alimentos fermentados provocando cambios en su olor, sabor y textura, además de su acción preservativa.

Referente a la aceptabilidad de los productos, para el T1 se obtuvo apreciaciones que van desde la escala 2 (desagrada), hasta la 4 (agrada). El mayor número de personas (10 %) de los catadores se inclinaron por la escala 4 “agrada”.

Para el T3 se obtuvo apreciaciones que van desde la escala 2 (desagrada), hasta la 5 (Agrada mucho). El mayor número de personas (10 %) de los catadores se inclinaron por la escala mayor 5 “Agrada mucho”. La aceptabilidad de las muestras de chorizo presenta un porcentaje alto, ya que las valoraciones van desde la escala 3 (ni agrada ni desagrada) a la 4 (agrada).

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

Se comprobó la efectividad del bioconservante a base de *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* y *Lactococcus cremoris* sobre la flora patógena del chorizo a una concentración de 0.1g/kg. Así mismo, las características organolépticas de los chorizos se vieron favorecidas por la acción del bioconservante puesto que la apreciación de los catadores indica que el sabor, color y textura fue más agradable en el T3 que en el T1, lo que generó mayor aceptación del producto. Sin embargo, para periodos de almacenamiento más extendidos se sugiere utilizar dosis más altas del bioconservante, puesto que al final del periodo de almacenamiento de este estudio se encontraron indicios de contaminación por *Clostridium sulfito* reductor y reaparición de coliformes totales, aunque en niveles aceptables de calidad según la Norma Técnica Colombiana 1325 de 2008.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antón A, Lizaso J, 2010. Nitritos, Nitratos y Nitrosaminas. Alimentaria online.
- Cástulo M, Gómez H, Alanís de la O R, 2008. Bacterias ácido-lácticas con capacidad antagónica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos. e-Gnosis 6 1-17.
- Cisternas A, Lagos N, Galstuch J, González C, García C, Díaz J, 2002. Infección por *Listeria monocytogenes* y embarazo con buen resultado perinatal. Revista Chilena de Obstetricia y Ginecología 67(3) 237-241.
- Instituto de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. (2007). Decreto 1500, por el cual se establece el reglamento técnico a través del cual se crea el Sistema Oficial de Inspección, Vigilancia y Control de la Carne, Productos Cárnicos Comestibles y Derivados Cárnicos Destinados para el Consumo Humano y los requisitos sanitarios y de inocuidad que se deben cumplir en su producción primaria, beneficio, desposte, desprese, procesamiento, almacenamiento, transporte, comercialización, expendio, importación o exportación.
- Jurado H, Montalvo C, Ramírez C, y Bolívar G, 2009. Efecto de bioconservación de carne molida de cerdo, tipo hamburguesa con *Lactobacillus acidophilus* cepa ATCC 4356 y *Staphylococcus carnosus* NRRLO2. Alimentos Hoy 16(16) 33-42.
- León V, Guerrero T, Pérez C, 2006. Efecto de bacterias ácido-lácticas termorresistentes en salchichas cocidas. Ciencia y Tecnología Alimentaria 5(2) 135-141.
- Ortega V, Vidal L, Vilardey S, Saavedra L, 2008. Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la Bahía de Santa Marta, Caribe Colombiano. Acta biológica colombiana 13(3) 87-98.
- Pérez A, 2011. Bacterias ácido-lácticas como conservante protector de microorganismos no deseables en chorizos. C. Paula (Presidencia). La alimentación para el siglo XXI: integración de la ciencia, la tecnología y la ingeniería, Conferencia llevada a cabo en el 2° Simposio Internacional y 3° Nacional Agroalimentario, Montería, Colombia.
- Quingatuña P, 2009. Utilización del ácido láctico (0.1%, 0.3% y 0.5%) en la elaboración de salchicha vienesa familiar para disminuir los niveles de nitrito residual en la planta de alimentos Don Diego. (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

Rodrigo L, Riestra S, 2007. Dieta y cáncer de colon. Revista Española De Enfermedades Digestivas, 99(3) 183-189.

Suarez H, Francisco A, Beirao L, 2008. Influencia de bacteriocinas producidas por *Lactobacillus plantarum* LPBM10 sobre la vida útil de filetes del híbrido de cachama *Piaractus brachypomus* x *Colossoma macropomum* empacado al vacío. Facultad de química farmacéutica 15(1) 32-40.

# DETECCIÓN DE VIBRIO SPP EN MOLUSCOS BIVALVOS COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE VALLEDUPAR-CESAR<sup>27</sup>

Juan Carlos Prada Herrera<sup>28</sup>, Pedro José Fragozo Castilla<sup>29</sup>

## RESUMEN

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAS) se encuentran entre los problemas de salud más importantes a nivel mundial. Los moluscos bivalvos, por su función biológica en la naturaleza de ser agentes filtradores de fitoplancton y zooplancton, pueden acumular en su interior los microorganismos patógenos presentes en el medio acuático, y actuar como vehículos para la transmisión de estos microorganismos al humano. La presencia de bacterias pertenecientes al género *Vibrio*, incluyendo *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* y *V. vulnificus*, en productos de la pesca representa un serio problema de salud humana. El objetivo de este estudio fue detectar la presencia de *Vibrio* spp en moluscos bivalvos procedentes de expendios en la ciudad de Valledupar-Colombia, empleando pruebas bioquímicas convencionales y serológicas con la finalidad de evaluar el riesgo asociado al consumo de los alimentos contaminados con este tipo de bacterias y relacionar estos hallazgos con la calidad microbiológica del producto. Se procesaron 56 muestras entre almejas y mejillones para la detección de las especies de *Vibrio* para así poder determinar la presencia de los organismos indicadores de la calidad microbiológica a partir de los homogenizados. De las muestras analizadas en solo dos muestras se pudo detectar la presencia de *Vibrio cholerae* no O1 representando un porcentaje de 3,57%. Convirtiéndose en un riesgo para la salud de acuerdo con los parámetros microbiológicos contemplados en la Resolución 776 del 2008.

---

<sup>27</sup> Derivado del proyecto de investigación: Factores de virulencia en especies de *Vibrio* asociados a moluscos Bivalvos y su relación con la calidad microbiológica

<sup>28</sup> Microbiólogo de alimentos – Universidad de Pamplona, Magister en Microbiología – Universidad del Zulia, docente, Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: [juanprada@unicesar.edu.co](mailto:juanprada@unicesar.edu.co).

<sup>29</sup> Bacteriólogo y laboratorista clínico Universidad del Santander UDES, Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Universidad de Zulia, Venezuela, Doctor en Medicina Tropical, Red de Universidades Estatales del Caribe Colombiano, Docente de tiempo completo del programa de Microbiología, Líder Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Milenio, Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: [pedrofragozo@unicesar.edu.co](mailto:pedrofragozo@unicesar.edu.co).

**PALABRAS CLAVE:** Virulencia, inocuidad alimentaria, enfermedades transmitidas por alimentos.

## **ABSTRACT**

Foodborne diseases (ETAS) are among the most important health problems worldwide. Bivalve molluscs, due to their biological function in the nature of phytoplankton and zooplankton filtering agents, can accumulate inside them the pathogenic microorganisms present in the aquatic environment, and act as vehicles for the transmission of these microorganisms to humans. The presence of bacteria belonging to the genus *Vibrio*, including *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus*, in fishery products represents a serious human health problem. The objective of this study was to detect the presence of *Vibrio* spp in bivalve molluscs of expense detection in the city of Valledupar-Colombia, using electronic and serological biochemical tests in order to assess the risk associated with the consumption of food contaminated with it. type of bacteria and relate these findings to the microbiological quality of the product. 56 samples were processed between clams and mussels for the detection of *Vibrio* species to determine the presence of organisms that indicate microbiological quality from homogenates. From the samples analyzed in only two samples, the presence of *Vibrio cholerae* no O1 could be detected, representing a percentage of 3.57%. Becoming a health risk according to the microbiological parameters contemplated in Resolution 776 of 2008.

**KEYWORDS:** Virulence, food safety, foodborne diseases

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAS) son generalmente de carácter infeccioso o tóxico y son causadas por bacterias, virus, parásitos o sustancias químicas que penetran en el organismo a través del agua o los alimentos contaminados (OMS, 2017).

Los productos de la pesca pueden transmitir *Aeromonas* spp, y *Vibrio* spp., “que sobreviven refrigeración y congelación, y que pueden ser agentes causales de enfermedades transmitidas por los alimentos” (Sánchez, Delgado, 2016, p.1)

Los moluscos bivalvos, por su función biológica en la naturaleza de ser agentes filtradores de fitoplancton y zooplancton, pueden acumular en su interior los microorganismos patógenos presentes en el medio acuático, y actuar como vehículos para la transmisión de estos microorganismos al humano; probabilidad que se acentúa por hábito arraigado en numerosas poblaciones de consumir crudo este tipo de alimento (Quiñones y col., 2000).

Estas características explican que los moluscos bivalvos constituyen alimentos potencialmente peligrosos, que pueden dar lugar a la aparición de brotes de enfermedades alimentarias. En Latinoamérica y especialmente en países como Perú, Colombia y Venezuela se tiene constancia de la participación de los productos de la pesca de origen marino, especialmente los moluscos bivalvos, en brotes de toxiinfecciones alimentarias, por lo cual se requiere de controles sanitarios particulares para evitar brotes epidemiológicos (Cofepris, 2010; Grau y col., 2004; Quiñones y col., 2000).

Es importante resaltar que, desde el punto de vista de salud pública, la presencia en los productos de la pesca de especies de *Vibrio* con importancia en salud humana y la expresión de sus factores de virulencia, han sido asociados en diferentes partes del mundo, a la aparición de brotes de toxiinfecciones alimentaria, particularmente las cepas enterotoxigénicas de *Vibrio cholerae*, causantes del cólera epidémico.

En Colombia no existe una cultura generalizada de consumo debido a varias causas, entre las cuales están la reducida oferta del bivalvo, la deficiente presentación y calidad sanitaria de los bivalvos nacionales, los altos precios, el escaso conocimiento del consumidor sobre este producto y las formas de preparación (Velasco y Barros, 2008).

## MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de la presente investigación, se recolectaron y procesaron 56 muestras de almejas y mejillones (*Polymesoda artacta* y *Mytella* sp) en iguales proporciones en los meses de septiembre de 2011 y febrero de 2012 procedentes de diferentes sitios de expendio de Valledupar-Cesar-Colombia. Y se procesaron de acuerdo con el Manual analítico de Bacteriología en línea de la FDA (BAM, 2004).

El aislamiento e identificación de *Vibrio* se hizo a partir del homogenizados preparados para tal fin. En el paso de identificación de *Vibrio*, se transfirió una azada de la película superficial a agar Tiosulfato-Citrato-Sales Biliares-Sacarosa (TCBS) y se incubó durante 18-24 h a 35 +/- 20C.

Se seleccionaron las colonias de coloración amarilla (*V. cholerae*) y verdes azuladas (*V. parahaemolyticus*), a las cuales se les realizó las pruebas bioquímicas para su identificación. Todos los medios para la detección de *V. parahaemolyticus*, contenían 2-3% de NaCl y para *V. vulnificus* al menos 0,5% NaCl. Se tomaron y transfirieron colonias típicas (3 o más) al medio no selectivo Agar Trypticosa Soya (TSA) para verificar pureza e incubaron 18-24 h a 35 +/- 20C. Y se le realizaron las pruebas de tinción de Gram, motilidad, Arginina Glucosa (AG), tolerancia a la sal (0%,3%), prueba de la cuerda y oxidasa.

Tabla 4  
 Características fenotípicas y tintoriales claves de *Vibrio cholerae* no O1.

<b>PRUEBA</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>REACCIÓN</b>
<b>Crecimiento en TCBS</b>	Positivo	Colonias amarillas
<b>Tinción de Gram</b>	Morfología bacilar	Bacilos Gram-negativos
<b>Movilidad</b>	Positivo	Móvil en medio SIM (1% de Nacl)
<b>Arginina glucosa</b>	Positivo	K/A
<b>Tolerancia a la sal</b>	Positivo	Crecimiento en TSA al 0% y 3%
<b>Prueba de la cuerda</b>	Positivo	Formación de hilo mucoide
<b>Prueba de oxidasa</b>	Positiva	Color morado en tirilla



Tabla 5  
Características fenotípicas claves de *Vibrio parahaemolyticus*.

<b>PRUEBA</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>REACCIÓN</b>
<b>Crecimiento en TCBS</b>	Positivo	Colonias verde azuladas
<b>Tinción de Gram</b>	Morfología bacilar	Bacilos Gram-negativos
<b>Movilidad</b>	Positivo	Móvil en medio SIM con 3% de NaCl
<b>Arginina glucosa</b>	Positivo	K/A, sin producción de H <sub>2</sub> S
<b>Tolerancia a la sal</b>	Positivo	Crecimiento en TSA con 3% de sal
<b>Prueba de la cuerda</b>	Positivo	Formación de hilo mucoso con desoxicolato de sodio al 0,5%
<b>Prueba de Oxidasa</b>	Positivo	Color morado en la tirilla
<b>Prueba de Ureasa</b>	Positiva	Bisel alcalino en agar urea con 3% de NaCl

A las cepas que se consideraron *Vibrio parahaemolyticus* se les realizó la prueba de la Ureasa. Ya que la misma ha sido correlacionada con la presencia de los genes *tdh* y/o *trh*, siendo una prueba valiosa para detectar las cepas patógenas.

## RESULTADOS

En las muestras de almejas y mejillones analizadas se pudo detectar la presencia de *Vibrio cholerae* no O1. Es importante tener en cuenta que los casos de infecciones por *Vibrio* tienen una distribución estacional marcada, la mayoría se producen durante el verano correspondiente a un periodo de temperaturas altas. Sin embargo, es importante citar que la presencia de *Vibrio* no está asociada con la contaminación fecal, por lo tanto, el monitoreo de los Coliformes fecales no es un indicador efectivo en la presencia de *Vibrio* en el ambiente (Iwamoto y col., 2010).

En Colombia, existen diversas regulaciones que determinan la calidad microbiológica de los moluscos bivalvos que incluyen la determinación de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (coagulasa positiva), *Salmonella* y *Vibrio cholerae* (Resolución 776, 2008, Colombia).

Las diferentes especies de *Vibrio* de importancia en la salud humana procedentes de moluscos bivalvos puede estar asociado a las condiciones favorables de su hábitat y que su vinculación en posibles infecciones adquiridas por el consumo de mariscos crudos o mal cocidos (Muñoz y col., 2012).

La mayoría de los *Vibrios* y bacterias relacionadas son acuáticos y se encuentran en hábitats marinos, salobres y dulces. *Vibrio cholerae* causa el cólera en los humanos y no suele causar enfermedades en otros hospedadores. El cólera es una de las enfermedades más comunes en países en vía de desarrollo y se transmite casi exclusivamente por alimentos y el agua (Madigan y col., 2015).

De las 56 muestras de moluscos bivalvos entre almejas y mejillones en solo dos muestras de almejas se pudo detectar la presencia de *Vibrio cholerae* no O1 representando un porcentaje del (3,57%).

Serotipificar las colonias sospechosas de *Vibrio cholerae* que pasaron la prueba de la cuerda, usando antígenos somáticos, es una evidencia epidemiológica importante. Dos

serotipos principales del serogrupo O1, Ogawa e Inaba, y el serogrupo O139 son reconocidos como patógenos humanos (BAM, 2004).

Se realizó el test de aglutinación serológica adicionando el antisuero polivalente para *Vibrio cholerae* y no se presentó aglutinación resultando una prueba negativa para *Vibrio cholerae* O1, confirmando que la cepa aislada en este estudio es una cepa de *Vibrio cholerae* no O1.

Estudios han demostrado que la mayoría de las cepas ambientales no producen la toxina colérica, que es codificada por un fago filamentoso transmisible. Sin embargo, existe una implicación en la adquisición de esos genes (*ctx*) de la toxina colérica (CT) bajo condiciones similares a los ambientes acuáticos. Los genes de virulencia incluyendo los *ctxAB* fueron encontrados entre cepas ambientales, sin embargo, existe la posibilidad de que los genes de virulencia son contribuidos por descargas de agua de la población humana en regiones endémicas (Grau y col., 2004).

*Vibrio cholerae* es la especie típica del género *Vibrio* y agente causal de brotes de cólera y epidemias. La enterotoxina colérica es el primer factor de virulencia en la enfermedad del cólera y ésta es producida por una isla de patogenicidad genética (VPI) que contiene la mayoría de los genes de CT (toxina colérica).

En contraste, las cepas no O1/O139 son comúnmente aisladas de aguas estuarinas y mariscos, evidencias sugieren que el serotipo de *Vibrio cholerae* O1 es un componente de la flora autóctona de aguas salobres, estuarios y pantanos salados de áreas costeras en zonas templadas, considerándose un peligro para la salud pública (BAM, 2004).

Muchos estudios han comentado que en cepas ambientales de *Vibrio cholerae* no se produce la toxina colérica (CT) y por tanto no tienen importancia desde el punto de vista epidemiológico. Jiang y col., 2003 comentan que la adquisición de los genes de la toxina colérica se puede presentar en condiciones similares a los ambientes acuáticos y que *Vibrio cholerae* no puede considerarse una bacteria netamente clínica. Los genes que codifican la toxina del cólera son introducidos en *Vibrio cholerae* por transferencia horizontal de genes desde un fago filamentoso CTXØ (Eslava y col., 2007).

La baja frecuencia de detección de *Vibrio* en este estudio podría asociarse con un estado no cultivable, ya que se sabe que, bajo estrés ambiental como bajos nutrientes y salinidad, *Vibrio cholerae* toxigénico adopta un estado viable no cultivable, que permite para

realizar funciones metabólicas y formar colonias sin ser cultivables y ser considerado como peligroso para la salud pública (Locascio y col., 2010).

En este sentido, de acuerdo con la Resolución 776 de 2008 de la Republica de Colombia para los moluscos bivalvos frescos ultracongelados y congelados crudos, los parámetros bacteriológicos cumplen con las condiciones sanitarias especificadas en la legislación debido a que se cumplieron los requisitos microbiológicos.

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

Con base a los resultados obtenidos en esta investigación no se puede establecer una relación concreta entre los genes de virulencia y los parámetros de la calidad en este tipo de producto. Además, no se pueden articular de manera clara con los organismos utilizados como parámetros de calidad microbiológica para poder ser considerados como predictores de la presencia de *Vibrio spp* en las muestras de moluscos bivalvos.

La práctica del monitoreo periódico de los sitios de pesca y venta con el fin de tomar un control preventivo sobre la posible transferencia de genes entre las poblaciones de género e intra-especies, además de la importancia de mantener los estudios para crear un mapa epidemiológico completo de las poblaciones nativas de *Vibrio* y su arsenal de virulencia en los países del Caribe debe ser obligatorio debido al papel recientemente referido del medio ambiente y el cambio climático en la dinámica de las enfermedades (Reichardt y col., 2013)

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. (2010). (COFEPRIS). Disponible en: <http://www.google.com/search?hl=es&source=hp&q=comision+federal+para+la+proteccion+contra+riesgos+sanitarios+mexico+2010&btnG=Buscar+con+Google&lr=>.
- Grau, C; La Barbera, A; Zerpa, A; Silva, S; Gallardo, O. (2004). Arca zebra y Perna perna procedentes de la costa nororiental del estado Sucre, Venezuela. Revista Ciencias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia. 14 (6): 513-521.
- Iwamoto, M., Ayres, T., Mahon. B., Sewerdlow, D. (2010). Epidemiology of seafood-associated infection in the United States. American Society for Microbiology. 23 (2):399-411.
- Jiang, S., Chu, W., Fu, W. (2003). Prevalence of Cholerae strain from Newport Bay, California. Applied Environmental Microbiology. 69 (2) : 7541-7544.
- Locascio de Mitrovich C, Villagra de Gamundi A, Silva C, Cecilia M, Binsztein N. Microcrustaceos y Vibrio cholerae O1 viable no cultivable (VNC): resultados en la Cuenca del Rio Sali, Tucuman, Argentina. Lat Am J Aquat Res [Internet]. 2010 [citado 2014 Jul 19]; 38(1):71-80. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/lajar/v38n1/art07.pdf>.
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., Stahl, D. (2015). Brock. Biología de los Microorganismos. 14 edición. Editorial Pearson. P. 522.
- Manual analítico de Bacteriología (BAM) capítulo 9. Vibrio (2004): Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070830.htm>
- BAM (2004). Manual analítico de bacteriología en línea FDA. Disponible en: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>
- Muñoz, D., Grau, C., Marval, H., Martínez, C. (2012). Identificación de bacterias del género Vibrio asociadas a zonas productoras de moluscos bivalvos Estado Sucre, Venezuela. Revista científica, FCV-Luz/vol XXII, N0 5, 459-467.

Organización Mundial de la Salud. (2017). La OMS publica la lista de las bacterias para las que necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Disponible en: [Who.int/es/new-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-wich-new-antibiotics-are-uegently-needed](http://Who.int/es/new-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-wich-new-antibiotics-are-uegently-needed).

Quiñones, E; Vázquez, C. Pedruche; F. Moreno, L; Rodas, O. (2000). Presencia de los géneros *Vibrio* y *Salmonella* y detección de coliformes en almejas del golfo de México. *Hidrobiológica* 10(2):128-131.

Reichardt, W.T., Reyes, J.M., Pueblos, M.J., Lluisma, A.O. (2013) Impact of milk fish in the tropics on potentially pathogenic *Vibrios*. *Marine Pollution Bulletin*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2013.09.018>.

Sánchez C., Juan David., Delgado P., María del Pilar (2016). Aislamiento e identificación de *Aeromonas* spp. B-hemolíticas y *Vibrio* spp potencialmente virulentos, en pescados y mariscos comercializados en Bogotá-Colombia.

Velasco, L; Barros, J. (2008). Cultivo de bivalvos en Colombia ¿Utopía o apuesta de futuro? Factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller técnico Regional de la FAO. 115-128. Pp.

# IDENTIFICACIÓN DE ANISÁKIDOS EN PESCADOS DEL RÍO CESAR<sup>30</sup>

Patricia Herrera<sup>31</sup>, Abid Cañate<sup>32</sup>, Carolina Castro<sup>33</sup>, Karen Mena<sup>34</sup>

## RESUMEN

La anisakiasis es una enfermedad zoonótica, debido a su extensa distribución geográfica y amplia frecuencia en el pescado de consumo habitual. En el departamento del Cesar estudios realizados sobre la presencia de nematodos en pescados de consumo hasta el momento eran nulos; por esa razón se planteó como objetivo identificar nematodos anisákidos presentes en pescados capturados en el efluente de las lagunas de oxidación de la planta de tratamiento de aguas residuales, en el río Cesar. Se determinaron especies de anisákidos empleando la tinción carmín clorhídrico alcohólico. Como resultado, de los 90 peces muestreados provenientes de 3 puntos diferentes en el río Cesar (área 1, colector final; área 2, 500 metros abajo del colector final y área 3, 500 metros arriba del colector final), 18 presentaron infestación (20%) y 72 pescados no presentaron parásitos (80%). Las especies de parásitos encontradas en el área 1 fueron *Contraecum* sp., *Pseudoterranova* sp. y *Anisakis* sp.; en el área 2 *Contraecum* sp. y *Anisakis* sp. y en el área 3, no hubo pescados parasitados. Se hallaron 154 parásitos, todos en estado adulto, de los cuales el 98,7% (152) se ubicaron en cavidad visceral y el 1,3% (2) en hígado. Aunque no se han presentado cuadros clínicos o enfermedades por el consumo de peces parasitados, su presencia en los pescados de consumo regional es un riesgo, principalmente cuando se ingiere crudo o escasamente cocinado.

**PALABRAS CLAVE:** *Nematodos*, *Anisakis* sp., *Contraecum* sp., *Pseudoterranova* sp., pescados de agua dulce, río Cesar

---

<sup>30</sup> Derivado del proyecto de investigación: Identificación de anisákidos en pescados del río Cesar

<sup>31</sup> Bacterióloga, Universidad Libre, Magister en Ciencias Ambientales, SUE- Caribe Antiatlántico, Bacterióloga (docente), Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: [patriciaherrera@unicesar.co](mailto:patriciaherrera@unicesar.co).

<sup>32</sup> Zootecnista, Fundación Universitaria Agraria de Colombia, Magíster en Desarrollo Sostenible y Medio ambiente, Universidad De Manizales, Zootecnista (docente), Universidad de Santander UDES, correo electrónico: [abidcg2@hotmail.com](mailto:abidcg2@hotmail.com).

<sup>33</sup> Microbióloga, Universidad Popular del Cesar, Microbióloga, correo electrónico: [karenmena107@hotmail.com](mailto:karenmena107@hotmail.com).

<sup>34</sup> Microbióloga, Universidad Popular del Cesar, Microbióloga, correo electrónico: [Carolcuello26@gmail.com](mailto:Carolcuello26@gmail.com).

## **ABSTRACT**

Anisakiasis is a zoonotic disease, due to its wide geographic distribution and wide frequency in commonly consumed fish. In the Cesar department, studies carried out on the presence of nematodes in fish consumed up to now were null; for this reason, the objective was to identify anisakid nematodes present in fish captured in the effluent of the oxidation ponds of the wastewater treatment plant, in the Cesar river. Anisakid species were determined using alcoholic hydrochloric carmine staining. As a result, of the 90 fish sampled from 3 different points in the Cesar river (area 1, final collector; area 2, 500 meters below the final collector and area 3, 500 meters above the final collector), 18 presented infestation (20 %) and 72 fish did not present parasites (80%). The parasite species found in area 1 were *Contracaecum sp.*, *Pseudoterranova sp.* and *Anisakis sp.*; in area 2 *Contracaecum sp.* and *Anisakis sp.* and in area 3, there were no parasitized fish. 154 parasites were found, all in the adult state, of which 98.7% (152) were located in the visceral cavity and 1.3% (2) in the liver. Although no clinical symptoms or diseases have been reported due to the consumption of parasitized fish, its presence in fish for regional consumption is a risk, mainly when eaten raw or undercooked.

**KEYWORDS:** Nematodes, *Anisakis sp.*, *Contracaecum sp.*, *Pseudoterranova sp.*, freshwater fish, Cesar river



## INTRODUCCIÓN

El pescado es uno de los productos pesqueros que ocupan un lugar destacado en la dieta alimenticia de Colombia, ya que aporta una gran variedad de vitaminas, minerales y proteínas al cuerpo humano, asimismo es uno de los alimentos con un valor económico asequible para la mayoría de la población. Colombia posee solo en las aguas dulces unas 3.000 especies de peces, la cuales pueden verse afectadas por un sinnúmero de enfermedades. Estas enfermedades pueden ser producidas por distintos agentes como bacterias, virus, protozoos, hongos y nematodos (Álvarez 2007). Los nematodos son parásitos bastante frecuentes en peces, se pueden encontrar como larvas o adultos en el hígado, cavidad abdominal, intestinos, músculos, vasos sanguíneos, branquias, vejiga natatoria y muy rara vez en los demás órganos (Heinz 1980). En ocasiones estos parásitos pueden ocasionarles a los peces graves enfermedades como malformaciones de tejidos y también zonas necróticas, originando así la muerte del animal y grandes pérdidas económicas (Tejada y López 2012).

En Colombia, desde 1971 y hasta la fecha se han realizado estudios parasitológicos enfocados en su mayoría a determinaciones de parásitos que afectan a peces ornamentales y, en general, de agua dulce con interés comercial (Cortés et al. 2009); así, la infestación causada por larvas de anisákidos, una familia de nematodos que infestan al ser humano tras ingerir pescado contaminado es una situación reportada recientemente. De esta manera, Arenas y García (2004) documentaron por primera vez para el país la presencia del nematodo *Pseudoterranova decipiens complex* en moncholo (*Hoplias malabaricus*) en la Ciénaga Grande de Lórica (Córdoba, Colombia). En la costa Caribe la presencia de estos parásitos se ha registrado en cinco departamentos (Magdalena, Atlántico, Bolívar, Sucre y Córdoba) siendo los géneros y especies más frecuentes *Contracaecum sp.*, *Anisakis simplex* y *Pseudoterranova decipiens* (Socarras et al. 2012).

Debido a que en el departamento del Cesar no existen actualmente investigaciones y/o estudios desarrollados para determinar la presencia de anisákidos en peces de interés comercial, el objetivo de este estudio fue identificar estos parásitos en pescados capturados en el efluente de las lagunas de la planta de tratamiento de aguas residuales El Salguero del río Cesar. Así, se pretende que los datos obtenidos sirvan para crear medidas de prevención y control en especies nativas acuícolas, fomentar el conocimiento sobre el riesgo de casos de

anisákidos en la población que habita en la ribera del río y sus alrededores, y por último servir como guía y estímulo en investigaciones futuras acerca de la infestación de parásitos en pescados de importancia comercial y consumo humano.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de pescados de agua dulce fueron capturadas de diferentes pesos y tallas, presentes en la desembocadura de las lagunas de oxidación de aguas residuales de EMDUPAR S.A. E.S.P en el río Cesar. Se incluyeron peces de cualquier especie, con tallas comerciales (16 cm o más) (AUNAP-UNIMAGDALENA 2013) y de cualquier sexo. Se obtuvieron en total 90 peces de forma artesanal, con atarrayas, en 60 días no consecutivos en los meses comprendidos entre enero y marzo. Se desarrollaron tres muestreos en lugares diferentes de la desembocadura de las lagunas de oxidación de aguas residuales, obteniéndose muestras grupales. Los pescados fueron transportados en bolsas con agua del río a los Laboratorios de Microbiología de la Universidad Popular del Cesar, en cantidades no mayores a 10 especímenes.

El tamaño óptimo de muestras se determinó mediante la fórmula para poblaciones infinitas:

$$n = \frac{Z^2 * p * q}{i^2}$$

Siendo n = Tamaño muestral; Z= 1,71 (nivel de confianza 91%); p = 0,5 (probabilidad esperada del parámetro a evaluar); q = 1 - p = 1 - 0,5 = 0,5; e i = 9% (error que se prevé cometer si es del 9%; i = 0.09) (Murray y Larry, 2005). Así, se obtuvo que:

$$n = \frac{1.71^2 * 0.5 * 0.5}{0.09^2} = 90$$

Para el procesamiento de las muestras se hizo el protocolo de necropsia para toma de muestras y estudio parasitológico el cual se realizó de acuerdo con el Manual de Métodos de Diagnóstico en Ictiopatología de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura

y la Alimentación (FAO 1987). Se realizó un examen visual directo para la identificación de lesiones externas e internas en los pescados. La visualización de estructuras internas e identificación de los parásitos anisákidos hallados se realizó mediante tinción con carmín clorhídrico alcohólico y observando en microscopio con objetivos de 10x y 40x, mientras que sus estructuras externas se visualizaron bajo estereoscopio con objetivo 2x.

Para la determinación de la prevalencia e intensidad media de infección de la cantidad de anisákidos encontrados en cada uno de los pescados se evaluó según el criterio de (Bush et al. 1997) de prevalencia parasitaria e intensidad media de infección, siendo la prevalencia parasitaria el porcentaje de la población de hospederos parasitados con respecto a la población de hospederos revisados:

$$\text{Prevalencia \%} = \frac{\text{Número de hospederos infectados}}{\text{Número de hospederos examinados}} \times 100$$

Mientras que la intensidad media de infección se define como la cantidad de parásitos de una especie encontrados en cada hospedero parasitado, determinándose así:

$$\text{Intensidad media de infección \%} = \frac{\text{Número de larvas}}{\text{Número de hospederos infectados}} \times 100$$

## RESULTADOS

Para las especies de uso comercial recolectados las muestreadas fueron mojarra amarilla (*Caquetaia kraussii*), bocachico (*Prochilodus magdalenae*), moncholo (*Hoplias malabaricus*), sardina golosa tolomba (*Astyanax magdalenae*); barbul negro (*Rhamdia quelen*), capaz (*Pimelodus grosskopfii*), sardina y mojarra comunes colirrojo (*Astyanax fasciatus*). Las especies más abundantes fueron la sardina común, la mojarra común y la sardina golosa tolomba (Figura 1). La mayor parte de los peces capturados fueron hembras (53) frente a los machos (37).

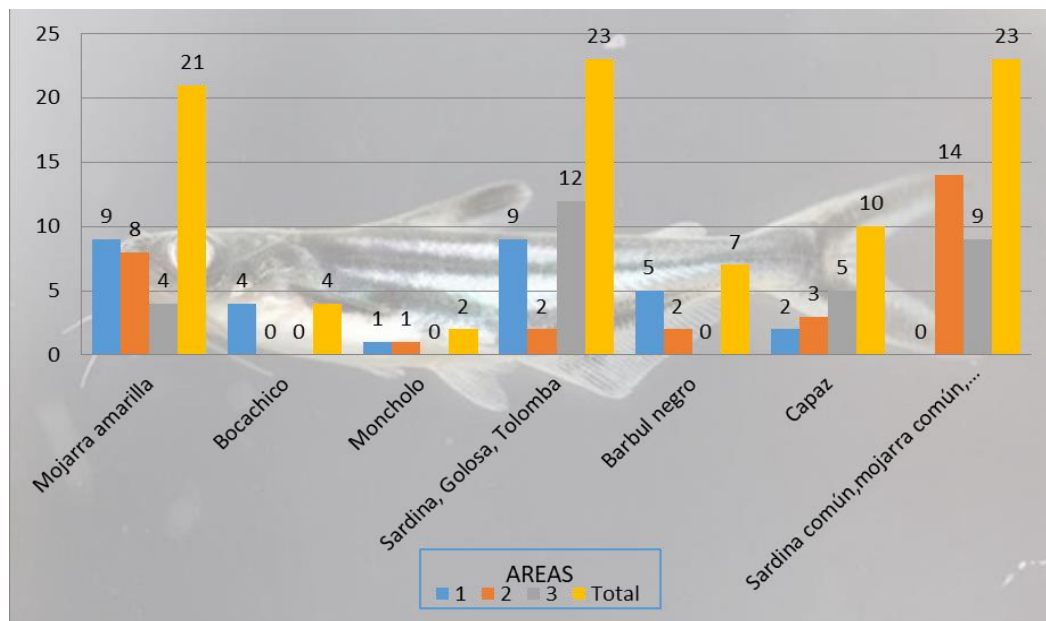


Gráfico 1 Pescados de uso comercial muestreados del río Cesar

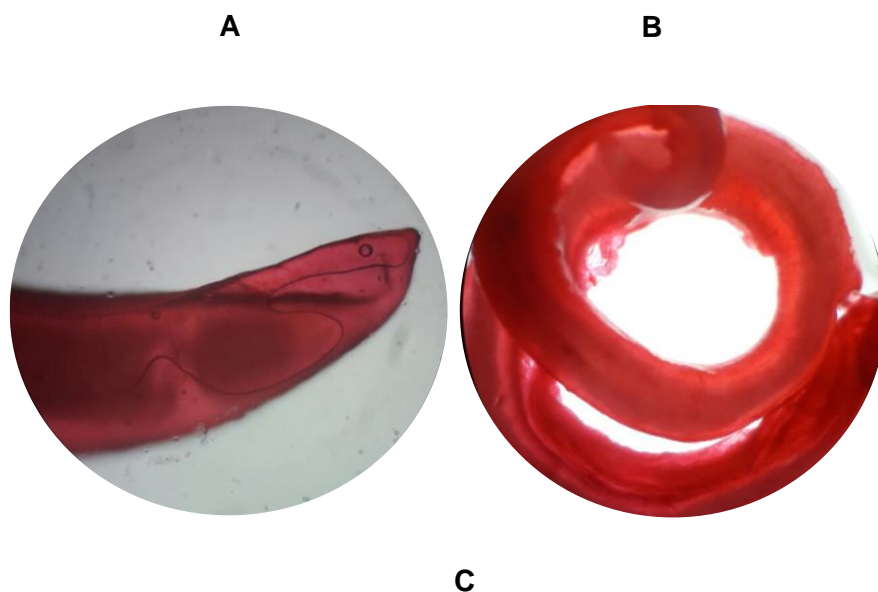
En la prevalencia por área de pescados parasitados por anisákidos y tasa de infestación parasitaria se puede evidenciar que, de los 90 peces capturados y analizados, 18 presentaron algún grado de infestación (20%) y 72 pescados no presentaron parásitos (80%). De acuerdo con lo anterior, la prevalencia fue del 18,20%.

En cuanto a la prevalencia de anisákidos por área, las especies de parásitos encontradas en el área 1 fueron *Contracaecum* sp., *Pseudoterranova* sp. y *Anisakis* sp. (Tabla 1), hallándose en total 14 parásitos. Esta área se caracteriza por recibir descargas de aguas residuales (colector final) y por ser más profunda, lo que facilita la supervivencia de los peces, su alimentación y la presencia de aves piscícolas. En el área 2 (500 metros abajo de la desembocadura del colector final) se hallaron un total de 5 parásitos de los géneros *Contracaecum* y *Anisakis*, mientras que no hubo presencia de peces parasitados en el área 3, situada 500 metros arriba de la desembocadura del colector final, debido probablemente a que esta área el río aún viene en su recorrido normal y no se evidencia contaminación por descargas de espuma. Se encontró que todos los parásitos encontrados eran ictiozoonóticos.

Tabla 1  
Especies de parásitos según las áreas muestreadas

Área	Especie de parásito	Ubicación (cavidad)	Cantidad
1	<i>Contracaecum</i> sp.	Visceral	10
	<i>Pseudoterranova</i> sp.	Visceral	3
	<i>Anisakis</i> sp.	Visceral	1
2	<i>Contracaecum</i> sp.	Visceral	4
	<i>Anisakis</i> sp.	Visceral	1
3	No se encontraron peces parasitados	-----	-----

Por otra parte, en cuanto a las especies de parásitos halladas por especie de pescado, el anisákido *Contracaecum* sp. (Figura 2A) se evidenció en mojarra amarilla, bocachico, moncholo, barbul negro y capaz; por otro lado, *Pseudoterranova* sp. (Figura 2B) se evidenció en los pecados moncholo, sardina, golosa, tolomba y capaz, mientras que *Anisakis* sp. (Figura 2C) estuvo presente en los pescados mojarra amarilla y moncholo.



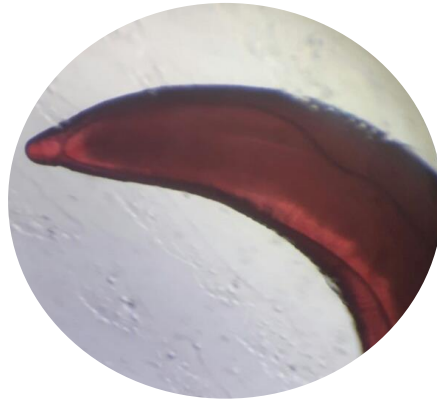


Figura 3 Parásitos anisákidos hallados en peces del río Cesar. (A) *Contracaecum* sp. encontrado en moncholo (*Hoplias malabaricus*) alojado en cavidad visceral. (B) *Pseudoterranova* sp. encontrado en sardina (*Astyanax magdalenae*) alojado en cavidad visceral. (C) *Anisakis* sp. encontrado en mojarra amarilla (*Caquetaia Kraussii*) alojado en cavidad visceral n.  
Fuente. Propia del autor.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Al comparar con el estudio realizado por Wadnipar (2013) en el municipio de San Marcos, Sucre, donde se evaluó la infección parasitaria por anisákidos en pescados de interés comercial, se encuentran dos especies en común, *C. kraussii* y *H. malabaricus*. Por otra parte, en otro estudio adelantado por Sánchez (2014) en el que se identificaron parásitos en pescados comerciales como bioindicadores de contaminación en seis zonas de la cuenca del río Magdalena, dos especies de peces capturadas, *Pimelodus grosskopfii* y *Prochilodus magdalenae*, coincidieron con las de la presente investigación. Se deduce, por tanto, que la población dulceacuícola de los ríos de Colombia, en especial la del norte del país, posee una amplia diversidad de peces, encontrándose muchas especies comunes sin importar la distribución a lo largo del recorrido de los cuerpos de agua (Baptiste et al. 2012).

Al comparar con otros estudios realizados, por ejemplo, en Argentina, donde se encontraron prevalencias hasta del 100%, y en México, en el cual se hallaron 205 nematodos parásitos del grupo de los anisákidos, se puede inferir que la prevalencia en este estudio es un poco inferior a la de otros países, pero no es ajena a la presencia de estos parásitos en los pescados de uso comercial en el río Cesar, por lo que se debe considerar y tomar medidas para minimizar el riesgo para la población consumidora.

Con respecto al grado de infestación, este fue moderado comparado con estudios en Argentina y México, presentando el mismo grado de infestación en comparación con estudios adelantados en Colombia en el río Sinú y en la playa del muelle en Riohacha y Camarones – La Guajira, los cuales arrojaron un grado de infestación leve.

Entre los factores que pudieron influir en la presencia de parásitos en peces están su tipo de alimentación y los niveles de contaminación que presenta el río en los sitios de muestreo especialmente en las áreas 1 y 2 donde son vertidas las aguas residuales de la planta de tratamiento de aguas residuales (PTAR). Esto último cual genera impactos negativos por la formación de espumas; de igual forma, la falta de regularidad en la limpieza de algunos segmentos del sistema y en la extracción de los lodos en todas las lagunas limita la reducción de la carga contaminante de los vertimientos al río. Como consecuencia, en época de verano la situación para el río Cesar se agrava, pues al disminuir su cauce no alcanza a diluir la contaminación de las aguas residuales, convirtiéndose en nichos de vectores de enfermedades (Guzmán 2013).

Finalmente, se identificaron los parásitos anisákidos presentes en los pescados del río Cesar a la altura del puente El Salguero, los cuales fueron *Anisakis* sp., *Contracaecum* sp. y *Pseudoterranova* sp., estando estos entre las especies más conocidas y relevantes de la familia Anisakidae. El estado de salud de los pescados no estuvo alterado, deduciéndose que estaban aparentemente sanos debido a que los parásitos no habían logrado formar lesiones o producir enfermedades. Sin embargo, cabe resaltar que todas las especies de peces son susceptibles a ser infectados por diversos parásitos ya que es un fenómeno común. Los resultados indican que se deben tomar medidas para minimizar en la población el riesgo de adquirir enfermedades relacionadas con el consumo de pescados infestados por anisákidos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Álvarez-León R, 2007. Asociaciones y patologías en los peces dulceacuícolas, estuarinos y marinos de Colombia: aguas libres y controladas. Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural 11 (1) 81-129.
- Arenas M, García Y. Determinación de parásitos en la estructura visceral del moncholo *Hoplias malabaricus* procedente de la Ciénaga Grande de Llorica Córdoba. [Trabajo de grado]. Universidad de Córdoba, Montería, Colombia; 2004.
- AUNAP-UNIMAGDALENA, 2013. Tallas mínimas de captura para el aprovechamiento sostenible de las principales especies de peces, crustáceos y moluscos comerciales de Colombia. Convenio 058 de 2013 entre la Autoridad nacional de acuicultura y pesca y la Universidad del Magdalena.
- Baptiste B et al., 2012. Informe sobre el estado de los recursos naturales renovables y del ambiente, componente de biodiversidad, 2010-2011. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt. Bogotá, Colombia. 42 p.
- Bush A, Lafferty K, Lotza J, Shostakaw. Parasitology meets Ecology on its own term. *J Parasitol* 1997; 83: 575-583.
- Cortés, J; Valbuena, J; Manrique, G. Nemátodos Parásitos de *Lutjanus synagris* (Linneaus, 1758) Y *Lutjanus analis* (Cuvier, 1828) (PERCIFORMES, LUTJANIDAE) en las zonas de Santa Marta y Neguanje, Caribe Colombiano *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, vol. 56, núm. I, enero-abril, 2009, pp. 23-31.
- FAO. 1987. Manual de métodos de diagnóstico en ictiopatología de la Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación.
- Guzmán, K. 2013. El río Cesar. Banco de la República. Numero 188 ISSN 1692-3715.
- Heinz hermann, Reichenbach klinke. (1980). Enfermedades de los peces. Kearneysville,USA. *Acriba zaragoza*. (pp.282).
- Sánchez MA. (2014). Identificación de parásitos en peces comerciales como bioindicadores de contaminación en seis zonas de la cuenca del río Magdalena. Universidad Militar Nueva Granada.
- Socarrás M, Demóstenes G, Sánchez C, 2012. Evaluación de la infección natural por anisákidos (Nematoda: ascaridoidea) en peces de interés comercial de la zona



Marinocostera de Riohacha y Camarones – La Guajira. Universidad Simón Bolívar.  
Santa Marta D. T. C. H.

Tejada M y López R, 2012. Evaluación de la presencia de nematodos del género Anisakis en los pescados de acuicultura marina españoles. Madrid, España.

Wadnipar Cano Lina María. (2013) Evaluación de la infección parasitaria por nemátodos anisákidos en peces de interés comercial en el municipio de San Marcos (Sucre).

# EFECTO INHIBITORIO DEL ACEITE DE LA SEMILLA DE NEEM (AZADIRACHTA INDICA) SOBRE BACTERIAS PATÓGENAS AISLADAS DEL BOCACHICO (PROCHILODUS MAGDALENAE) VALLEDUPAR COLOMBIA<sup>35</sup>

Evelyn Bonett Calderon<sup>36</sup>, Grestling Guerra González<sup>37</sup>, Yumar Ruidiaz Mendez<sup>38</sup>

## RESUMEN

Frente a la falta de nuevos antibióticos, el aumento y amenaza de la resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos se ha incrementado el interés por la búsqueda de extractos naturales como alternativa para el control de microorganismos patógenos al hombre. El objetivo de la presente investigación fue determinar el efecto inhibitorio del aceite de las semillas del Neem (*Azadirachta indica*) sobre bacterias patógenas aisladas del Bocachico fresco (*Prochilodus magdalenae*) en el mercado público de Valledupar Colombia. El método utilizado para la extracción del aceite de las semillas de Neem, fue a través del contacto directo del solvente hexano extracción sólido-líquido discontinua y luego una separación de la mezcla soluto-solvente por destilación simple, a través del equipo soxhlet. La determinación del efecto inhibitorio del aceite de la semilla de Neem sobre bacterias patógenas aisladas del Bocachico fresco, sembradas en agar Mueller Hinton, se llevó a cabo por el método de difusión en agar por disco, evaluándose a concentraciones de 10%, 20%, 40%, 60%, 80% y 100%, utilizando un control positivo Peróxido de Hidrógeno al 30% y un control negativo Metanol al 80%. Se identificaron microorganismos como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp* y *Vibrio cholerae*. Los resultados obtenidos de la inhibición fueron analizados estadísticamente por el método No paramétrico de Kruskal – Wallis, el cual determinó que había diferencias significativas entre las bacterias, observándose que *Staphylococcus aureus* presentó un halo de inhibición promedio de 26.6

---

<sup>35</sup> Derivado del proyecto de investigación: Efecto Inhibitorio Del Aceite De La Semilla De Neem (*Azadirachta Indica*) Sobre Bacterias Patógenas Aisladas Del Bocachico (*Prochilodus Magdalenae*) Valledupar Colombia

<sup>36</sup> Microbiología, Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: [evelinbonet@hotmail.com](mailto:evelinbonet@hotmail.com)

<sup>37</sup> Microbiología, Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: [g3-juliette@hotmail.com](mailto:g3-juliette@hotmail.com)

<sup>38</sup> Bacteriología, Universidad de Santander, Msc Microbiología, Universidad del Zulia, Grupo de Investigación Parasitología Agroecología Minlenio, Universidad Popular del Cesar, correo electrónico: [yumarruidiaz@unicesar.edu.co](mailto:yumarruidiaz@unicesar.edu.co).

mm, seguido *Vibrio cholerae*, con un halo de inhibición de 17.3 mm, ambos en la concentración al 80%. Luego *E. coli*, con un halo promedio de 15.3 mm tanto en las concentraciones al 10% y 40%. *Salmonella sp*, con una zona de inhibición de 13.3 mm en la concentración al 40%. Con base a estos resultados se puede establecer que el aceite de semilla de Neem (*Azadirachta indica*) posee efecto inhibitorio para las bacterias patógenas aisladas, generando la posibilidad de ser utilizado como alternativa para el control de estos microorganismos en ambientes alimentarios y no alimentarios.

**PALABRAS CLAVE:** Neem, bacterias patógenas, pescado Bocachico, Azadiractina, extracción.

## **ABSTRACT**

In recent years there has been increased interest in the use of natural extracts as an alternative for the control of pathogenic microorganisms to man. The objective of this research was to determine the inhibitory effect of oil from the seeds of Neem (*Azadirachta indica*) on pathogenic bacteria isolated from fresh Bocachico (*Prochilodus magdalenae*) in the public market of Valledupar Colombia. The method used for the extraction of oil from the seeds of Neem, was through direct contact of the hexane solvent extraction discontinuous solid-liquid separation and then the solute-solvent mixture by simple distillation, through soxhlet equipment. The determination of the inhibitory effect of seed oil of Neem on pathogenic bacteria isolated from fresh Bocachico sown in Mueller Hinton agar, was carried out by the agar diffusion method by disk, evaluated at concentrations of 10%, 20%, 40%, 60%, 80% and 100%, a positive control using hydrogen peroxide 30% and a negative control to 80% methanol. Microorganisms were identified as *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella sp* and *Vibrio cholerae*. The results of inhibition were statistically analyzed by the nonparametric method of Kruskal - Wallis test, which determined that there was significant difference between the bacteria, *Staphylococcus aureus* was observed that showed an average inhibition zone of 26.6 mm, followed by *Vibrio cholerae*, a inhibition zone of 17.3 mm, both in the concentration to 80%. Then *E. coli*, with an average of 15.3 mm halo both concentrations of 10% and 40%. *Salmonella sp*, with a zone of inhibition of 13.3 mm at 40% concentration. Based on these results we can establish that the seed oil of Neem (*Azadirachta indica*) has inhibitory effect on pathogenic bacteria isolated, raising the

possibility of being used as an alternative for controlling these organisms in food and non-food environments.

## INTRODUCCIÓN

Sin lugar a duda los antimicrobianos han sido uno de los descubrimientos más importante que ha tenido la humanidad y son probablemente la familia más exitosa de fármacos desarrollados hasta la fecha para mejorar la salud humana, para prevenir y tratar infecciones de animales y plantas, sin embargo, su mal uso pone entre dicho sus múltiples ventajas, debido a que aumenta la resistencia de los microorganismos (Barrios *et al.*, 2016).

El incremento de la resistencia microbiana por la presión selectiva que representa la utilización de antibióticos a gran escala ha permitido cepas con mecanismos de resistencia que, en muchas ocasiones, dejan prácticamente sin alternativas para el tratamiento de las infecciones. La resistencia a los antimicrobianos reduce las posibilidades de tratamiento eficaz de enfermedades, prolonga el tiempo de agonía de los enfermos y los obliga a utilizar medicamentos costosos, además de alargar el tiempo de hospitalización y aumentar el riesgo de mortalidad. A nivel ambiental existe una marcada relación entre los residuos de antibióticos en ecosistemas y el aumento de bacterias resistentes a ellos en el medio ambiente (Serra, 2017). En el contexto alimentario la manipulación inadecuada de los alimentos y el uso de antibióticos en animales destinados a la producción de alimentos está contribuyendo a la aparición de farmacoresistencia en patógenos humanos (OMS, 2019).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) afirmó que la Resistencia Antimicrobiana se encuentra en un punto crítico ubicándola dentro de los diez problemas de especial atención y reveló una grave falta de nuevos antibióticos en fase de desarrollo para combatir la creciente amenaza de la resistencia a los antimicrobianos, afirmando que la mayoría de los fármacos que se están desarrollando son modificaciones de clases de antibióticos ya existentes que ofrecen soluciones solamente a corto plazo, hay una grave falta de opciones terapéuticas contra bacterias gramnegativas, entre ellas enterobacterias (como *Klebsiella* y *E. coli*) (OMS, 2017). Un nuevo informe ratifica lo anterior y advierte de que, si no se toman medidas, las enfermedades farmacoresistentes podrían causar 10 millones de defunciones anuales en 2050, al menos 700 mil personas fallecen cada año por enfermedades farmacoresistentes y para 2030, la resistencia a los antimicrobianos podría sumir en la

pobreza extrema hasta 24 millones de personas, por lo que el llamado es usar racionalmente los antimicrobianos ya que son fundamentales para salvaguardar la producción, la inocuidad y el comercio de alimentos, así como la salud humana y animal, y promover claramente su uso responsable en todos los sectores (OMS, 2019). Dentro de la lista prioritaria de las 12 bacterias resistentes a antibióticos publicada por la OMS en 2017, 8 son de transmisión alimentaria como la *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter*, *Salmonella sp*, *Shigella* y otras Enterobacterias.

El Bocachico es el pez de agua dulce de mayor importancia en la actividad piscícola de la región Caribe (Barreto y Mosquera, 2001), pero la calidad alimentaria de este muchas veces se ve afectada debido a que es un producto de fácil descomposición por factores físicos, químicos y microbiológicos; la contaminación por estos últimos se les atribuye principalmente a microorganismos como *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae* y *Listeria monocytogenes*, los cuales son patógenos para el hombre (Huuss, 1999).

El nombre científico del árbol de Neem, es *Azadirachta indica*, pertenece a la familia Meliácea, es un árbol de crecimiento rápido, de hoja perenne que se caracteriza por contener sustancias naturales que poseer compuestos que tienen actividad antimicrobiana teniendo efectividad contra organismos gram positivos y gram negativos, (Etcheverry, 2003). También se ha señalado que el aceite de las semillas de Neem posee efecto bactericida sobre *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* (Cháidez *et al.*, 2002). Las semillas de Neem contienen una serie de limonoides estructuralmente relacionados con la azadiractina, como nimbina, nimbolina y melantriol que en conjunto son considerados compuestos de gran actividad biocida, estos varían de acuerdo con la variedad genética y al estado de madurez del árbol de Neem (Sánchez, 2007).

Todo lo anterior, permite pensar sobre alternativas en la búsqueda de nuevas sustancias con poder antimicrobiano, por lo que la presente investigación se orienta a determinar si los aceites extraídos de las semillas del Árbol de Neem puede tener algún efecto Inhibitorio sobre bacterias patógenas Gram positivas y Gram Negativas patógenas aisladas del Bocachico fresco comercializado en el mercado público de Valledupar Colombia.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El tipo de estudio fue de tipo experimental, debido a que se manipulo variables que permitieron estimar la eficacia del aceite de Neem para inhibir bacterias gram positivas y gram negativas. Esta investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología y en el Centro Industrial para las Investigaciones de Ingenierías (CIDI) de la Universidad Popular del Cesar (UPC)

Las muestras fueron semillas del árbol de Neem y Bocachico fresco. Las semillas de neem se tomó de forma manual y aleatoria recogiendo los racimos enteros, seleccionando frutos que no tenían daños físicos, ni signos de enfermedades, ni golpes, ni magulladuras, con coloración externa homogénea (Oñate y Quintero, 2008). Mientras que las 36 muestras de Bocachico se tomaron en el pabellón de pescados ubicado en el mercado público de la ciudad de Valledupar, los cuales fueron transportados en bolsas plásticas de cierre hermético en cavas con hielo a una temperatura no mayor a 4°C, hacia el Laboratorio de Microbiología de la UPC.

A continuación, se explica el proceso de extracción del aceite de la semilla de Neem a partir de solvente (extracción solido-liquido discontinua). Primero se acondiciona el fruto por medio de un lavado, despulpado y secado de la semilla a una temperatura de 70°C por 6 - 24 horas, posteriormente estas semillas se sometieron a molienda en un molino eléctrico y luego se tamizó, obteniendo partículas homogéneas de un diámetro de 1 a 2mm (Quintero y Oñate 2008). Para el proceso de extracción se utilizó la metodología recomendada por Jahan *et al.*, 2007.

Segundo se realizan los cartuchos de la semilla molida, tomando cinco unidades de papel filtro y se colocó cierta cantidad de la harina de Neem en el centro de estos y se dobló el papel generando la forma rectangular, sellándolo con grapas de tal forma de que no se saliera el contenido.

Tercero se hace la extracción primaria por contacto directo con el solvente orgánico, donde los cartuchos llenos con la harina de semilla de Neem molida se depositaron en un recipiente de vidrio con capacidad de un litro y limpio. Después se adicionaron 500ml del solvente hexano en frio se cerró herméticamente y se envolvió con una bolsa negra, se agito

y se dejó reposar por 24 horas. Pasado el tiempo se filtró el solvente con ayuda de un papel filtro, sobre un matraz fondo plano. El cual tomó un color amarillo intenso debido a la absorción de la grasa de la semilla.

Cuarto se hace la separación del solvente y recuperación del aceite de la semilla, para este paso se utilizó el equipo Soxhlet a modo de destilador, con lo cual se recuperó el solvente y en el fondo del matraz quedó el aceite de la semilla de Neem. Y Quinto se hace el secado del aceite con la finalidad de evaporar cualquier residuo del solvente, el aceite se mantuvo en baño serológico durante 20 horas a temperatura 60°C (Jahan *et al.*, 2007).

Luego se hace la identificación de bacterias patógenas presentes en el Bocachico fresco, de acuerdo con la Resolución 776 de 2008, las bacterias que determinan la calidad del Bocachico fresco son *E. coli*, *Staphylococcus* cuagulasa positiva, *Salmonella spp* y *Vibrio cholerae*, para su identificación se utilizaron pruebas convencionales.

Y por último se hace la evaluación del efecto inhibitorio del aceite de la semilla de Neem sobre bacterias patógenas aisladas del Bocachico fresco (*Prochilodus magdalenae*). Para los ensayos del efecto inhibitorio se utilizó el método de difusión en agar Kirby-Bauer, Descrito por Bauer *et al.*, (1966).

Preparación de las diferentes concentraciones del aceite de Neem. Para diluir el aceite de Neem se utilizó el aceite mineral estéril (parafina líquida) recomendada por (Jahan *et al.*, 2007). Se prepararon las diluciones del aceite de Neem a 10, 20, 40, 60, 80% y Utilizando el aceite de Neem puro (100%) y aceite mineral estéril. Se realizó un control de negativo del aceite mineral impregnando los discos de papel filtro con este aceite estéril al 100% en placas sembradas con cada una de las cuatro bacterias ensayadas.

Para la inoculación de las placas se realizó a los quince minutos siguientes a la preparación del inóculo, se tomó un escobillón estéril y se sumergió en la suspensión bacteriana estandarizada haciendo presión del escobillón contra las paredes del tubo para eliminar el exceso, luego se distribuyó el inóculo sobre la superficie total del agar Mueller Hinton, pasando el escobillón también por el borde de las cajas de Petri (Gualtieri *et al.*, 2008).

En la aplicación de los discos impregnados con aceite de Neem a diferentes concentraciones ensayadas sobre las placas inoculadas con las bacterias en estudio. Los discos de papel filtro WHATMAN F-C de 6 mm de diámetro, fueron esterilizados durante

15 min a 15 psi. Luego se impregnaron con 100 $\mu$ L de cada una de las concentraciones preparadas del aceite de Neem. Seguidamente, se colocaron tres discos por caja, uno con la concentración respectiva, un control positivo (Peróxido de hidrogeno al 30%) y un control negativo (Metanol al 80%). con la ayuda de una pinza estéril se colocaron de forma equidistantes sobre la superficie del agar haciendo presión para que se uniera bien a esté. El procedimiento se realizó para cada una de las concentraciones por triplicado. Las placas fueron invertidas y puestas en la incubadora a 37°C durante 24 horas (Sarmiento *et al.*, 2010).

Para la lectura de las placas, luego de 24 horas de incubación, se examinó cada placa por separado, realizando una lectura del diámetro de cada halo expresado en mm, comparándolos con el control negativos (Metanol al 80%) y el control positivo (Peróxido de hidrógeno al 30%). Teniendo en cuenta que las zonas de inhibición resultantes fueron uniformemente circulares, Claras, con una capa homogénea de crecimiento (Sarmiento *et al.*, 2010).

Por último, se realizó un análisis estadístico de la varianza univariante (ANOVA) con el fin de determinar diferencias significativas a un nivel de confianza del 95% de las diferentes concentraciones del aceite extraído de la semilla de Neem (*Azadirachta indica*), sobre el crecimiento de las bacterias patógenas aisladas del Bocachico fresco en función de los diferentes halos de inhibición obtenidos en las diferentes concentraciones del aceite de Neem.

## RESULTADOS

Para la extracción del aceite de la semilla de Neem a partir de solvente (extracción solido-liquido discontinua). Se obtuvo el aceite a partir de semillas de Neem con un rendimiento en porcentaje (%) del 5.76% de aceite por cada 100gr de semilla, seca y molida. Teniendo en cuenta que se utilizó un valor de densidad teórico de 0.921 gr/ml para determinar la masa del aceite. (0.921gr/ml x 50 ml= 46.05gr de aceite que es igual a 5.76% porcentaje de aceite de semilla de Neem). Ósea el rendimiento del aceite de Neem en ese estudio fue de 5.76% de aceite de semilla de Neem.

Resultados de rendimientos superiores muestran Arias *et al.*, (2009) donde a partir de 100 gr de semillas de Neem obtuvieron un rendimiento de 8.35% de aceite de Neem, así



mismo Romero y Vargas, 2005 arrojaron valores superiores de 9.07 % utilizando el método solvente hexano, de igual manera muestran que el rendimiento mayor lo obtuvieron con este método seguido en orden decreciente los métodos de éter de petróleo, etanol, hasta el método de prensado. En la determinación de bacterias patógenas aisladas del Bocachico fresco, se identificó cepas de *Staphylococcus aureus*, *salmonella sp*, *Vibrio cholera* y *Escherichia coli*.

A continuación, se describe la evaluación de la actividad inhibitoria del aceite de Neem (*azadirachta indica*) sobre bacterias patógenas aisladas del Bocachico fresco. En primer lugar, está la actividad Inhibitoria del aceite de Neem sobre *Staphylococcus aureus*. A concentración del 10% el promedio de halo de inhibición fue de 11.3 con una desviación estándar (DS) de 1.15, en la concentración del 20% presentó promedio con valor de 12 mm y una desviación estándar de 2.0, mientras que a concentración del 40% mostró un promedio de 15.3 mm y una DS de 1.15, en la concentración al 60% presentó un promedio con valor de 18.6 mm, con DS de 1.15, en la concentración al 80%, presentó un promedio de 26 mm con una DS de 1.15 y por último en la concentración al 100% *Staphylococcus aureus* presentó un promedio de 18.6 mm con DS de 1.15. Los valores de la desviación estándar muestran que se encuentran cerca del valor promedio. Es evidente el efecto inhibitorio que presenta la concentración al 80% del aceite de Neem sobre esta bacteria ya que esta concentración tiene el mayor promedio de inhibición expresado en 26.6 mm, seguido de las concentraciones del 60 y 100% cuyos diámetros de inhibición en ambas concentraciones tuvieron valores de 18.6mm, el menor valor en el diámetro de inhibición lo presentaron las concentraciones al 20 y 10% con promedios de 12 y 11.3 mm.

Estadísticamente los promedios de los halos de inhibición presentados en las concentraciones de 10, 20, 40 y 80% muestran diferencia significativa, mientras que las concentraciones de 60 y 100% no presentaron diferencias significativas como se observa en la figura 1. Resultados similares a los obtenidos en esta investigación con respecto a los valores de inhibición arrojados en las concentraciones del 60 y 100% con valor de 18.6 mm presentaron Jahan *et al.*, (2007), donde reportaron que *Staphylococcus aureus*, presentó un diámetro de inhibición de 19 mm a una concentración (dilución 1:32) mucho menor a la utilizada en el presente estudio. Cabe aclarar que la técnica que utilizaron estos investigadores para realizar la inhibición de varios microorganismos incluido *Staphylococcus aureus*, es diferente a la utilizada en la presente investigación, el hecho de que esta bacteria

sea susceptible de inhibición por todas las concentraciones del aceite de Neem utilizadas se puede apoyar en que la pared bacteriana de las gram positivas poseen una estructura simple, constituida por un mono complejo fácilmente hidrolizable, lo que permitiría la entrada de este compuesto y alterar la funcionalidad de la membrana celular del *Staphylococcus aureus* (Daud *et al.*, 2008).

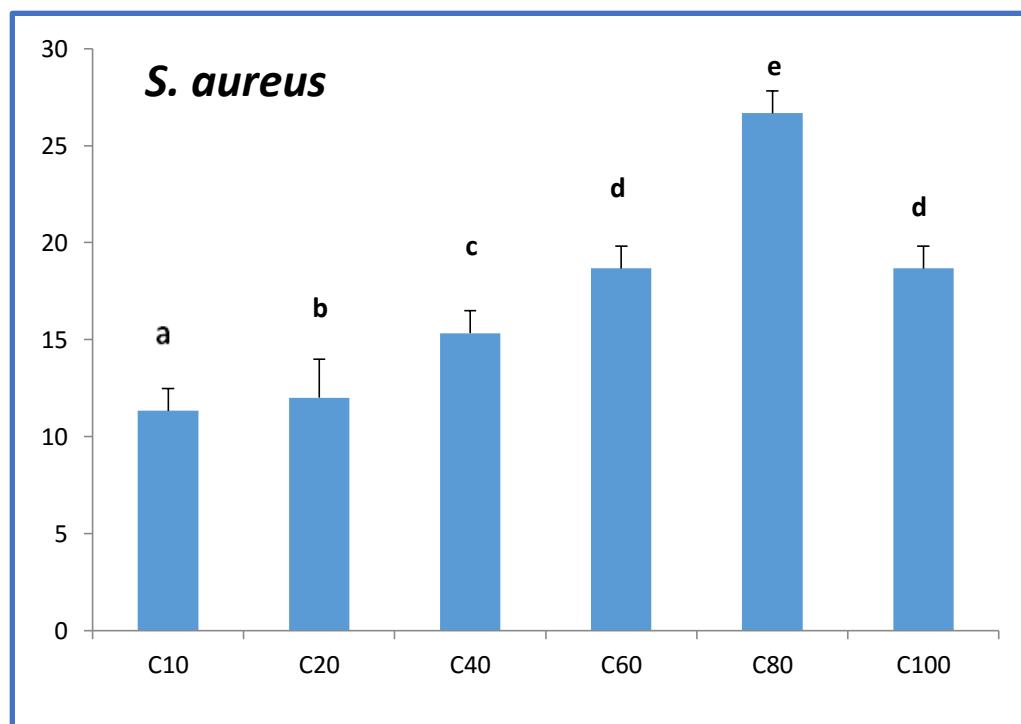


Figura 2. Medias y Desviación estándar de halos de inhibición de las diferentes concentraciones de aceite de Neem sobre *Staphylococcus aureus*.  
Nota: Medias seguidas por la misma letra minúscula no presentan diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ).

Para la actividad Inhibitoria del aceite de Neem sobre *Salmonella sp.* A concentración del 10% no se evidencio la presencia de halos de inhibición, en la concentración al 20% el halo de inhibición presento un promedio de 9.3 mm, con una DS de 1.15, mientras que a concentración del 40% mostro un promedio de 13.3 mm y una DS de 1.15, en las concentraciones al 60% y 80% presentaron un promedio con valor 8 mm, con DS de 0.0 y por último en la concentración al 100% presento un promedio de valor 18.6 mm con DS de 1.15 Los valores de la desviación estándar muestran que se encuentran cerca del valor promedio, la concentración al 40% del aceite de Neem presento el mayor promedio de

inhibición expresado en 13.3 mm, seguido de la concentración del 100% cuyo promedio de inhibición presento un valor de 10.6mm, continuando la concentración al 20% cuyo promedio de inhibición presento un valor de 9.3 mm, seguido de las concentraciones del 60 y 80% cuyos diámetros de inhibición en ambas concentraciones tuvieron valores de 8 mm. Los promedios de los halos de inhibición presentados en las concentraciones de 20, 40 y 100% muestran diferencia significativa, mientras que las concentraciones de 60 y 80% no presentaron diferencias significativas como se observa en la figura 2. Comparando los resultados de este trabajo con los obtenidos por Majeed *et al.*, (2007), en el cual determinaron la actividad antimicrobiana del aceite de Neem in vitro, en la concentración del 0.4% fue efectivo frente a *Salmonella paratyphi A* y *Salmonella paratyphi B* con una zona de inhibición de 20 mm, valores mayores a los obtenidos en el presente estudio donde la mayor zona de inhibición presento un valor promedio de 13.3 para la concentración al 40%. Esta discrepancia puede apoyarse en que la técnica utilizada por estos autores es diferente a la realizada en el presente estudio.

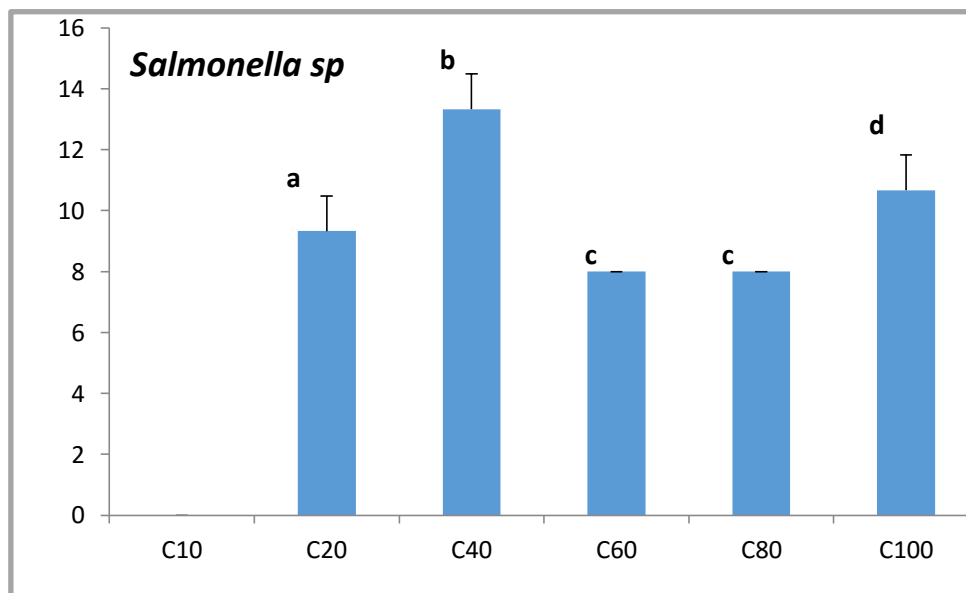


Figura 3 Medias y Desviación estándar de halos de inhibición de las diferentes concentraciones de aceite de Neem sobre *Samonella sp.*

En la actividad Inhibitoria del aceite de Neem sobre *Vibrio cholerae*. En las concentraciones del 10% y 20% no se evidencio la presencia de halos de inhibición, en la concentración al 80%, presento un promedio de 17.3 mm con una DS de 1.15, mientras que

la concentración del 40% mostro un promedio de 8.6 mm y una DS de 1.15, en la concentración al 60%, presento un promedio de 10.6 mm con una DS de 1.15, y por último en la concentración al 100% presento un promedio de valor 8 mm con DS de 1.15. Los valores de la desviación estándar muestran que se encuentran cerca del valor promedio, la concentración al 80% del aceite de Neem presento el mayor promedio de inhibición expresado en 17.3 mm, seguido de la concentración del 60% cuyo promedio de inhibición presento un valor de 10.6mm, continuando la concentración al 40% cuyo promedio de inhibición presento un valor de 8.6 mm, las concentraciones al 10 y 20% no presentaron ningún efecto inhibitorio este comportamiento puede explicarse debido a que probablemente a que el extracto de Neem al ser diluido pierde la concentración de OH que puede tener alguna interferencia en la reacción de los compuestos activos (Viveros y Castaño, 2006). Estadísticamente los promedios de los halos de inhibición presentados en las concentraciones de 40, 60, 80 y 100% muestran diferencia significativa, como se observa en el gráfico 3. Comparando los resultados de este trabajo con los obtenidos por Dhayanithi *et al.*, (2010), en el cual determinaron la actividad antimicrobiana del aceite de Neem in vitro, observaron que *Vibrio cholerae* a una concentración del 90% mostro una zona de inhibición de 18 mm, resultados similares a los del presente estudio donde a la concentración del 80% presento un valor promedio de 17.3 mm.

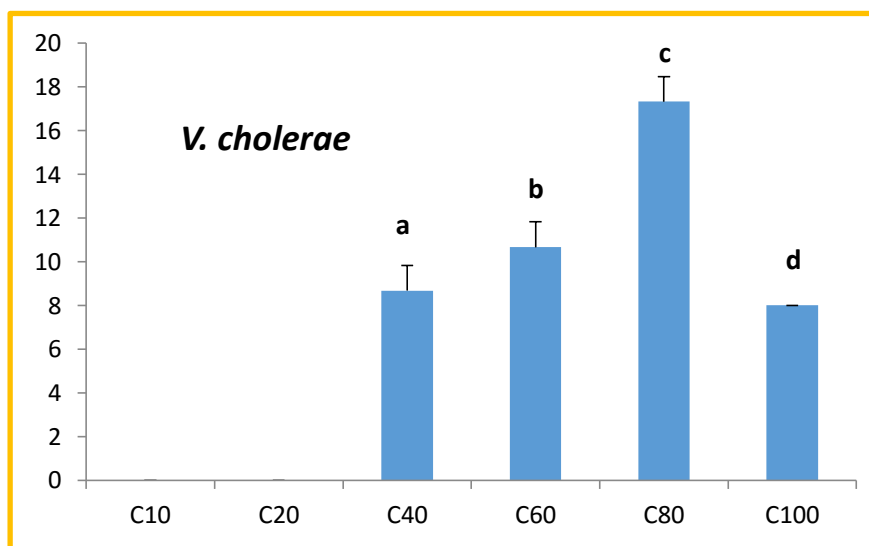


Figura 4. Medias y Desviación estándar de halos de inhibición de las diferentes concentraciones de aceite de Neem sobre *Vibrio cholerae*.

Actividad Inhibitoria del aceite de Neem sobre *Escherichia coli*. A concentración del 10, 40, y 80% el promedio de halo de inhibición fue de 15.3 con una desviación estándar (DS) de 1.15, la concentración del 60% presento promedio con valor de 12.6 mm y una desviación estándar de 1.15, mientras que a concentración del 20% mostro un promedio de 9.3 mm y una DS de 1.15, y la concentración al 100% presento un promedio con valor 8 mm, con DS de 0.0, Los valores de la desviación estándar muestran que se encuentran cerca del valor promedio el mayor efecto inhibitorio lo presentan las concentraciones del 10, 40 y 80% con un diámetro de inhibición de 15.3 mm para ambas concentraciones, la concentración con menor diámetro de inhibición es la 100% con un diámetro de 8 mm, la concentración al 60% tiene una inhibición significativa sobre *E. coli* con un diámetro de inhibición de 12.3 mm, Estadísticamente los promedios de los halos de inhibición presentados en las concentraciones 10, 40, y 80% no muestran diferencia significativa, mientras que las concentraciones de 60 y 100% presentaron diferencias significativas como se observa en la figura 4, en un estudio realizado por Dhayanithi *et al.*, (2010), observaron que los extractos de Neem tuvieron un efecto inhibitorio para *E. coli* con una zona de inhibición de 15 mm, también muy parecidos a los resultados obtenido en este estudio, ya que a la misma concentración *E. coli* tuvo un halo de inhibición de 15.3 mm.

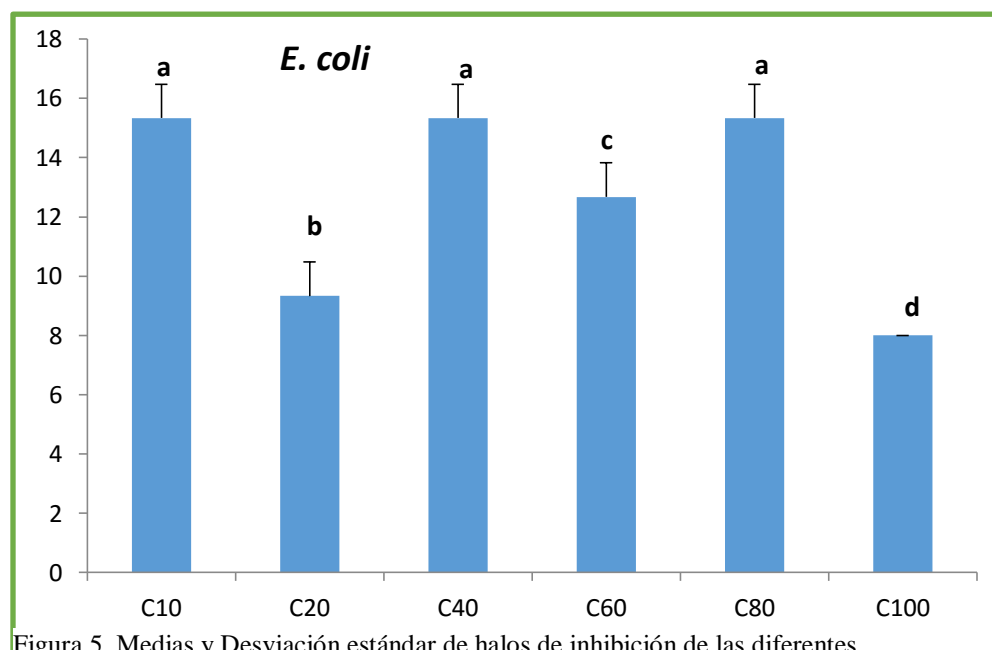


Figura 5. Medias y Desviación estándar de halos de inhibición de las diferentes concentraciones de aceite de Neem sobre *E. coli*.

En la figura 5 se observa el promedio de las inhibiciones de cada una de las bacterias estudiadas en las diferentes concentraciones de aceite ensayadas en la concentración al 10% la bacteria *Staphylococcus aureus* presento un promedio de 11.3 mientras que *E. coli*, presento un promedio 15.3mm, y Mientras que *Salmonella sp.*, y *Vibrio cholerae* en cambio en esta concentración no tuvo ningún efecto inhibitorio. Este resultado es comparado con el obtenido en la investigación realizada por López *et al.*, (2007) donde se observó inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* de manera creciente y constante desde la concentración más baja evaluada (10%), hasta la mayor (50%).

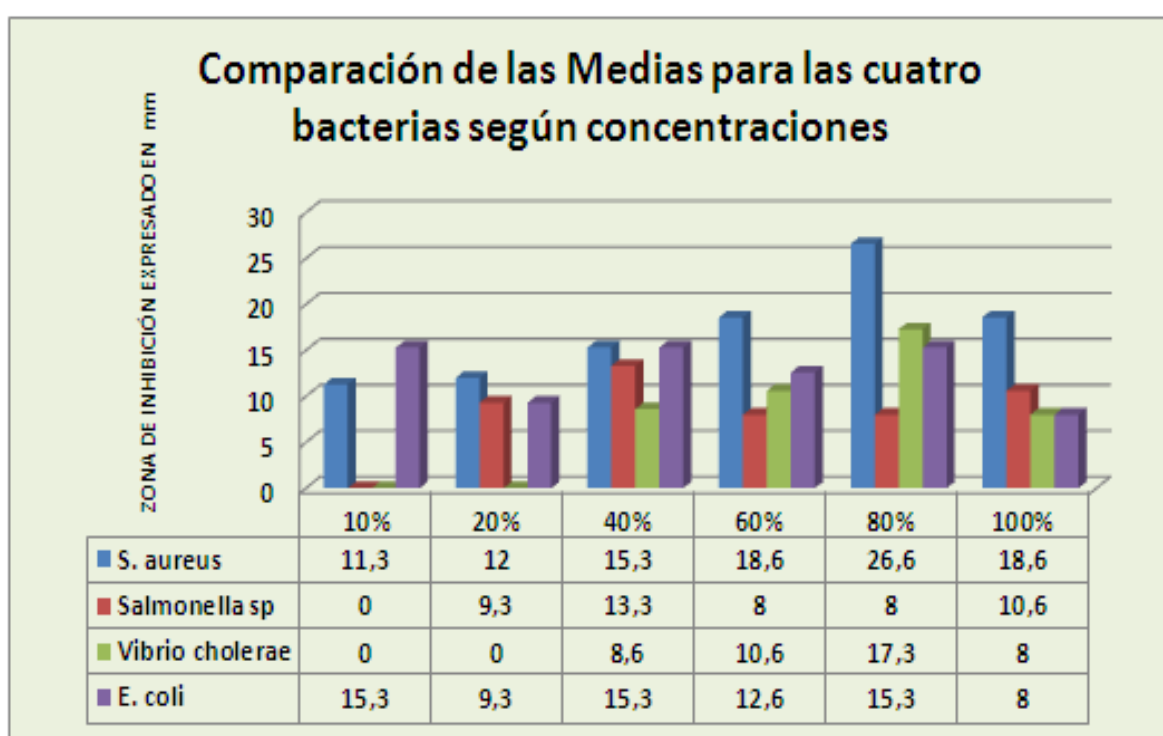


Figura 6. Medias de halos de Inhibición obtenidas en cada una de las bacterias estudiadas

En la concentración al 20% *Staphylococcus aureus* presento un mayor promedio con valor de 12mm con respecto a *Salmonella sp.*, y *Escherichia coli* cuyos promedios resultaron iguales con valor de 9.3mm, mientras que *Vibrio cholerae* no presento inhibición en esta concentración. En la concentración al 40%, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, presentaron un promedio igual con valor de 15.3mm, seguidamente *Salmonella sp.*, presento una media de valor 13.3mm, *Vibrio cholerae* presento un promedio inferior a los demás con

un valor de 8.6mm. De acuerdo a los resultados obtenidos podemos decir que la capacidad inhibitoria del aceite de Neem se podría fundamentar por el hecho de que uno de los principales mecanismos de acción propuesto para los terpenoides, principales constituyentes del aceite de Neem consiste en la disrupción de la membrana celular bacteriana mediante tres posibles vías como aumentando la permeabilidad de la membrana a iones pequeños, afectando la estabilidad estructural de la membrana y desestabilizando el empaquetamiento de la bicapa lipídica, cualquiera de estos tres efectos produce la muerte de la célula bacteriana (Maguna *et al.*, 2006).

En la concentración al 60% *Staphylococcus aureus* presentó el promedio con el mayor valor 18.6mm, *Vibrio cholerae*, y *Escherichia coli*, presentaron los siguientes promedios 10.6, 12.6mm respectivamente siendo *Salmonella sp.*, la de un promedio de menor 8mm en comparación con las demás. en la concentración al 80% *Staphylococcus aureus* presento un promedio de 26mm siendo el promedio más alto alcanzado por esta bacteria en comparación a los demás promedios dados por las otras bacterias en todas las concentraciones, *Vibrio cholerae*, y *Escherichia coli* presentaron promedios de 17.3, 15.3mm respectivamente mientras que *Salmonella sp* presento el promedio de menor valor para esta concentración de 8 mm, en la investigación realizada por Dhayanithi *et al.*, (2010)

En la concentración al 90% se observó que *E. coli* presento una zona de inhibición de 15 mm, en este trabajo a la concentración del 80% también se obtuvo una zona de inhibición de 15.3% Por último en la concentración al 100% *Staphylococcus aureus* presento un promedio de valor 18.6 mm, *salmonella sp.*, con un promedio de 10.6 mm, *Vibrio cholerae*, y *Escherichia coli* con un promedio inferior a los demás y de igual valor de 8 mm. Estas diferencias de resultados de halos de inhibición entre bacterias y entre concentraciones se pueden explicar también por lo reportado por Angulo *et al.*, (2004) los cuales indican que la variedad genética y al estado de madurez del árbol de Neem incide en la actividad biocida de este.

Por otro lado, Mitchell *et al.*, (1997) señala la variabilidad en la susceptibilidad de cepas bacterianas según los componentes activos del Neem. Así mismo se podría pensar que si se separan los principios activos del aceite de las semillas de Neem se obtendría una mejor inhibición. Caso parecido lo reporta SaiRam *et al.*, (2000) donde evidenciaron que un fragmento del aceite del Neem (NIM – 76) era más efectivo por sí solo, que, si se aplicaba

entero, mostrando incluso más efecto inhibitorio, ya que logró inhibir *E. coli* y *Klebsiella Pneumoniae* que no eran afectadas por el Neem entero. Con respecto a los resultados de *Salmonella* y *Vibrio* a concentraciones de 10% pudiera evidenciar que los componentes activos del Neem muestran algún grado de selectividad biocida sobre diferentes cepas bacterianas (Gualtieri *et al.*, 2008)

En esta investigación las bacterias gram negativas fueron menos inhibidas frente al aceite de Neen que las gram positivas este hecho podría explicarse por la composición de la membrana externa, la cual posee cadenas de polisacáridos hidrofílicos que actúan como barrera frente a los aceites hidrofóbicos (Inouye *et al.*, 2001).

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

El aceite de Neem ensayado mostro un efecto inhibitorio tipo bactericida sobre las bacterias en estudio, con un comportamiento irregular, pudiendo apreciarse que el efecto inhibitorio de los extractos ensayados es muy variable dependiendo de la bacteria ensayada y de la concentración estudiada, destacandose el mayor efecto inhibitorio a concentraciones del 80% sobre *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, presentando un promedio de inhibición de 26.6 mm y 17.3 mm respectivamente. A concentración del 10, 40, y 80% el promedio de halo de inhibición fue de 15.3 para *Escherichia coli* y la concentración al 40% para *Salmonella sp* con una zona de inhibición de 13.3 mm demuestra ser la concentración donde mayor promedio de inhibición se presentó, tomando estos resultados como promisorios para utilizar el aceite de Neem en el control de microorganismos patógenos en alimentos.



## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Angulo, M.; Gardea, A.; Vélez, R.; García, R.; Carrillo, A.; Chaidez, C. (2004). Contenido de Azadiractina A en semillas de NIM (*Azadirachta indica* A. Juss) colectadas en Sinaloa, México. *Rev Fitotecnia Mex.* 27: 305-311.
- Arias, D., Vázquez, E., Acosta, W., Montañez, L., Alvarez, R. (2009). Determinación de la azadiratina de los aceites esenciales del árbol de Neem, (*Azadirachta indica*). *Rev Ingenieria UC*, Vol. 16, N°3, pp 22-26.
- Barreto, C. y Mosquera, B. (2001), *Boletín Estadístico Pesquero Colombiano*. Bogotá. INPA.1-15p.
- Barrios, R. L. A., Sierra, C. A. S., y Morales, J. D. C. J. (2016). Bacterias resistentes a antibióticos en ecosistemas acuáticos. *Producción+ Limpia*, 10(2).
- Bauer A W, Kirby W M, Sherris J C, Turck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *Am J ClinPathol* 1966; 45: 493-6.
- Chaidez, C., y Jacquez, I. (2002). Actividad bactericida de extractos acetonicos de semillas de *Swietenia humilis* y *Azadirachta indica* Juss, contra *Escherichiacoli* y *Salmonella typhimurium*.
- DhayanithI, N., Kumar, A., Kathirenan, K. (2010). Effect of neem extract against the bacteria isolated from marine fish. *Rev Journal of environmental biology* 2010. P 409-412.
- Etcheverry, M. (2003). *Neem la planta asombrosa*.
- Gualtieri, M.; González, M.; Contreras, K.; Noguera, M.; Uzcátegui, E.; Villamil, S.; Villalta, C. (2008). Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de *Azadirachta indica*. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*.39 (2): 67.
- Huss, H. (1999). *Pescado Fresco: su calidad y cambios de su calidad*. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 348. Roma, FAO. 1998. 202p.
- Inouye, S., T. Takizama y H. Yamaguchi. 2001. Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *J. Antim. Chem.*47:565-573.
- Jahan, T., Begum Z., Sultana, S. (2007), Effect of neem oil on some pathogenic bacteria. vol no2 p 7172. Disponible en: <http://www.bdjpharmacol.com/journalbdps0202/020271.pdf>.

- Lopez, Y., Angulo, M., Martinez, C., Soto, J., Chaidez, C. (2007). Efecto antimicrobiano de extractos crudos de neem (*azadirachta indica* a. juss) y venadillo (*swieteniahumiliszucc*) contra *E.coli*, *S. aureus* y el Bacteriofago p22. Vol. 32, no. 004
- Maguna, F.; Romero, A.; Garro, O y Okulik, N. Actividad antimicrobiana de un grupo de terpenoides.
- Mitchell, M.; Smith, S.; Johnson, S.; Morgan, E. (1997). Effects of the neem three components azadiractin, salanin, nimbin, and 6- desacetylnimbin on ecdysone 20-monooxygenase activity. *Arch Insect Biochem Physiol.* 35: 199-208
- Oñate R y Quintero L. Caracterización fisicoquímica de los extractos de la semilla del árbol de Neem (*Azadirachta Indica*) en el departamento del cesar. Valledupar 2008. p. 110.
- Organización Mundial de la Salud, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación, Africa unión. 2019. Conferencia internacional sobre inocuidad de los alimentos. El futuro de la Inocuidad de los alimentos. África.
- Organización Mundial de la Salud. 2017. Informe de la OMS sobre el desarrollo clínico de nuevos antibióticos.
- Organización Mundial de la Salud. 2019. Informe para prevenir crisis por resistencia a los antimicrobianos. Nueva York.
- Romero, C y Vargas, M. (2005). Extracción del aceite de la semilla de Neem (*Azadirachta indica*) *Rev. Ciencia* Vol. 13 N° 4, pp 464-474.
- Rovere, M. (2018). La resistencia antimicrobiana: una perspectiva internacional e intersectorial. *Inmanencia. Revista del Hospital Interzonal General de Agudos (HIGA) Eva Perón*, 6(1).
- Sairam, M. (2002). Anti-microbial of a new vaginal contraceptive NIM-76 from neem oil (*Azadirachta indica*). *J. Ethnopharmacology.* 2002; (71): 377-382.
- Sanchez, R. (2007) *Zoe tecno-campo: Aceite de Neem un insecticida ecológico para la agricultura.* Disponible en: <http://www.zoetecnocampo.com/Documentos/Neem/neem01.htm>.
- Sarmiento, M. K.; Barros, J. A.; Zuleta, M. J. (2010). Evaluación del efecto antimicrobial de polifenoles presentes en el extracto de pulpa de totumo (*Crescentia Cujete*) sobre las bacterias *Staphylococcus aureus* y *E. coli*. Valledupar. p. 93.

Serra Valdés, M. Á. (2017). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 16(3), 402-419

# **RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN LOS ALIMENTOS: PERSPECTIVAS ACTUALES, CONTEXTO NACIONAL E IMPORTANCIA DE SU DETECCIÓN DESDE EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**<sup>39</sup>

Soraya Morales-López<sup>40</sup>

## **INTRODUCCIÓN**

El desarrollo de la resistencia antimicrobiana (RAM) entre las bacterias es considerado uno de los principales problemas de salud pública en el mundo. La presencia de bacterias resistentes en aguas, ambiente y animales para consumo representa un riesgo para los seres humanos ya pueden ser transmitidas directamente o a través del suministro de alimentos (Donado-Godoy, 2015).

Estudios recientes han indicado que, a menos que se tomen medidas y se produzca un cambio significativo, la carga de muerte por RAM podría aumentar a 10 millones de vida cada año, convirtiéndose en la principal causa de muerte para 2050. Con base en esa misma estimación, cada tres segundos podría morir una persona por causas ligadas a infecciones por bacterias resistentes (O'Neil, 2016).

El objetivo de este trabajo fue realizar una revisión actualizada sobre la resistencia a los antimicrobianos, su transmisión, su detección en el laboratorio y la situación actual de resistencia antimicrobiana en alimentos en Colombia.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se realizó una búsqueda de literatura en diferentes bases de datos como Pubmed, LILACS, Google Académico y en los sitios web de la Organización Mundial de la Salud (OMS/WHO), la Organización Panamericana de la Salud (OPS), Los Centros para el Control y Prevención de las Enfermedades (CDC), la Organización de las Naciones Unidas para la

---

<sup>39</sup> Derivado del proyecto de investigación: Compendio de revisión de varios proyectos de investigación.

<sup>40</sup> Bacterióloga y Laboratorista Clínico, Universidad Industrial de Santander; Especialista en Microbiología Médica, Universidad Metropolitana; Magister Scientiae en Microbiología, Universidad del Zulia; Doctor en Ciencias de la Salud, Instituto Universitario de Ciencias de la Salud Fundación H.A. Barceló. Docente del programa de Microbiología, Universidad Popular del Cesar; Docente del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Santander: [sorayaeugeniam@hotmail.com](mailto:sorayaeugeniam@hotmail.com)

Alimentación y la Agricultura (ONUAA/FAO), la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), el Instituto Nacional de Salud de Colombia (INS) y el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos de Colombia (INVIMA), sobre el tema de resistencia antimicrobiana. Se consultaron alertas epidemiológicas, textos y artículos originales y de revisión publicados en los últimos diez años. Para los artículos originales, se consideró la experiencia profesional y científica del autor en la temática y el número de citas de cada documento.

Para el abordaje conceptual del tema se realizó una exposición estructurada en cuatro apartados: Generalidades de los antibióticos, Mecanismos de resistencia bacteriana, Métodos fenotípicos para la detección de la resistencia desde el laboratorio y Estado actual de la resistencia en los alimentos.

Generalidades de los antibióticos: Los antibióticos son sustancias que pueden producir la muerte o inhibir el crecimiento de un microorganismo (O'Neill, 2016; WHO, 2015). En la ganadería y la piscicultura, los antibióticos se pueden usar con tres propósitos: para el tratamiento de las infecciones, lo que evita la diseminación a otros miembros y reduce la expulsión del microorganismo; como profiláctico, para prevenir la aparición de brotes; y como premezclas medicamentosas en la dieta del animal, para estimular el crecimiento del animal (Arenas, 2018; CDC, 2015).

Algunos antibióticos de uso veterinario comparten estructura, mecanismo de acción y espectro de acción con los antibióticos de uso terapéutico humano y, en algunas ocasiones, la aprobación en medicina veterinaria ha precedido a la aprobación humana (Wendlandt, 2015). De los 41 antibióticos aprobados para animales por la Food and Agriculture Organization of the United Nations (FDA) y descritos por la OIE como agentes con importancia veterinaria, 31 se consideran médicamente importante para los seres humanos; es decir, que hacen parte del grupo de antibióticos cuya eficacia se debe preservar para proteger la salud humana (FDA, 2015; OIE, 2013; WHO, 2017). Una vez que los antibióticos normalmente usados empiezan a ser inefectivos para las bacterias, se hace necesario utilizar las llamadas opciones de “reserva” o “último recurso”, las cuales frecuentemente son preparaciones más tóxicas y/o costosas, como es el caso de la colistina (O'Neill, 2016).

La colistina es un antibiótico del grupo de las polimixinas producido por *Paenibacillus polymyxa var colistinus* que fue dejado de usar por sus efectos tóxicos a nivel

neurológico y renal. Este antibiótico se inserta en la membrana externa celular y ocasiona la destrucción de la integridad de la bicapa lipídica al alterar el equilibrio osmótico, lo que conlleva a la salida de contenido celular y a la muerte bacteriana. A pesar de su toxicidad, la colistina debió ser reutilizada por ser considerada el último recurso para tratar las infecciones por bacilos gramnegativos resistentes a carbapenemes. No obstante, es conocido que la utilización animal sobrepasa ampliamente la utilización en humanos (Jerke, 2016).

El uso de los antibióticos en animales ha contribuido de manera importante en la resistencia antimicrobiana a nivel mundial (FAO, 2015). Así, para entender el efecto de los antimicrobianos en la industria alimentaria y su impacto en la salud humana, es necesario conocer los mecanismos que originan la resistencia bacteriana y que facilitan su diseminación.

Mecanismos de resistencia bacteriana: La resistencia es la capacidad de un microorganismo para crecer y multiplicarse ante la actividad inhibitoria o letal de un antimicrobiano. Esta resistencia puede ser intrínseca (llamada también natural, cromosómica o innata), cuando es propia de cada género o especie bacteriana y es ocasionada por mecanismos permanentes y determinados genéticamente (por ejemplo, la carencia de un sitio blanco); o adquirida, que es impredecible, específica de cada aislado y se ocasiona por mecanismos de transferencia horizontal de material genético entre las bacterias (conjugación, transducción, transformación) y que incluyen plásmidos, transposones, elementos de inserción o integrones (Verraes, 2013).

La resistencia adquirida es considerada la más peligrosa para la salud pública por su frecuencia y facilidad de transmisión y puede ocasionar mutaciones en los genes que codifican los sitios blancos, utilización de vías metabólicas alternas, inactivación o degradación enzimática de los antibióticos y alteraciones en la permeabilidad celular (disminuir la entrada o aumentar la salida del antibiótico). Las bacterias resistentes pueden causar enfermedad en el hospedero o pueden permanecer como colonizantes y transmitirse al medio ambiente, plantas, animales o seres humanos.

Métodos fenotípicos para la detección de la resistencia: las bacterias resistentes a los antibióticos y los genes de resistencia antibiótica son reportadas en todo el mundo; no obstante, en cada caso, las cifras difieren mucho según la ubicación geográfica y los factores relacionados con la capacidad de detección e identificación. Además, la transferencia

horizontal continua de genes conduce a nuevas poblaciones bacterianas con una combinación dinámica y cambiante mecanismos y perfiles de resistencia (Founou, 2016).

Los métodos basados en papel de filtro son, tal vez, los métodos más antiguos y sencillos para la determinación de perfiles de sensibilidad y resistencia de los aislamientos bacterianos desde el laboratorio de Microbiología (Bauer, 1966; Bondi, 1947; Morley, 1945). En la actualidad, estos métodos continúan vigentes y se constituyen en herramientas fenotípicas útiles para la detección de mecanismos de resistencia que pueden ser de interés epidemiológico (CLSI 2006; CLSI 2018a; CLSI 2018b).

En los microorganismos gramnegativos, estos mecanismos de resistencia incluyen la detección de enzimas betalactamasas (del tipo resistentes a los inhibidores, de espectro extendido, tipo AmpC), carbapenemasas, resistencia a quinolonas y aminoglucósidos (Navarro, 2011); mientras que en gérmenes grampositivos incluyen la detección de mecanismos de resistencia en *Staphylococcus spp.* (Producción de betalactamasas, resistencia a la meticilina, resistencia a los macrólidos y a la clindamicina, resistencia a los aminoglucósidos, sensibilidad disminuida a los glucopéptidos, resistencia a la mupirocina, resistencia al linezolid); en *Enterococcus spp.* (Resistencia de alto nivel a la gentamicina y a la estreptomycin, resistencia a los glucopéptidos) y en *Streptococcus pneumoniae* (resistencia a los betalactámicos y a las fluoroquinolonas) (Morosini, 2012). La determinación fenotípica permite una aproximación rápida, sencilla y económica a los mecanismos de resistencia presentes en los aislamientos microbianos.

Situación Nacional de la Resistencia Bacteriana en Alimentos: En Colombia, el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) y el Instituto Nacional de Salud (INS) son los responsables de la administración y el uso de antibióticos en las prácticas pecuarias, y son quienes regulan e inspeccionan las buenas prácticas en el uso de medicamentos veterinarios, descritas en la resolución 1382 de 2013 del Ministerio de la Protección Social. En esta normatividad se establecen los límites máximos de residuos que no alcanzan a ser tóxicos para el ser humano, de acuerdo con la ingesta diaria admisible de cada antibiótico (Arenas, 2018).

No obstante, el desconocimiento o incumplimiento deliberado de esta regulación, junto con la venta libre de antibióticos y la (anti-)cultura de la automedicación, son factores que contribuyen a la selección de bacterias resistentes (Donado-Godoy, 2015).

A nivel nacional, algunos estudios han demostrado la presencia de antibióticos en leche cruda (Máttar, 2009); como la presencia de bacterias multiresistentes en animales exóticos (iguana, chigüiro, icotea), considerados por algunos pobladores rurales como alimentos de consumo humano (Karczmarczyk, 2010).

Actualmente, no hay datos oficiales sobre el destino y la distribución del uso de los antimicrobianos en el mercado nacional; sin embargo, en Estados Unidos, por ejemplo, el 70 % de los antibióticos son consumidos por animales y solo el 30 % son destinados a los seres humanos (O'Neil, 2016).

## RESULTADOS

A continuación, se describen brevemente algunos resultados de aquellas publicaciones nacionales, consideradas de mayor relevancia para este artículo.

En el estudio realizado por Karczmarczyk y cols., (2010), se recuperaron 93 aislamientos de *Salmonella spp.*, de muestras de alimentos que presentaron valores inusualmente altos de resistencia a las quinolonas. Por otra parte, en el estudio publicado por Méndez y cols, (2011), donde se analizaron muestras de alimentos de venta callejera en un sector universitario de Bogotá, se detectaron resistencias a antibióticos de uso humano en aislamientos de *Salmonella entérica* y *Citrobacter freundii* a partir de muestras de perros calientes, hamburguesas, arepas y chorizos. Y entre los agentes grampositivos, en ese mismo año, el estudio realizado por Ruiz-Bolívar y cols, que incluyó 108 aislamientos de *Listeria monocytogenes*, mostró que el 48 % de los aislamientos presentó multiresistencia y que el 16 % de los aislados fue resistente a los antibióticos empleados en el tratamiento de la listeriosis (Ruiz-Bolívar, 2011).

En un estudio sobre prevalencia, factores de riesgo y perfiles de resistencia antimicrobiana de aislamientos de *Salmonella spp.*, de granjas de pollo de engorde en Santander y Cundinamarca, todos los aislamientos presentaron resistencia a entre 2-15 agentes antimicrobianos. Además, el patrón de resistencia más común incluyó antibióticos usados rutinariamente en el tratamiento de las infecciones humanas (Donado-Godoy, 2012).



En 2015, Donado-Godoy y cols., publicaron una investigación sobre el establecimiento de un Programa Integrado Colombiano de Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana (COIPARS), como un estudio piloto realizado sobre granjas avícolas, mataderos y mercados minoristas. En este trabajo el objetivo fue monitorear la RAM y los cambios en la sensibilidad de los agentes relacionados con las zoonosis y desarrollar medidas que permitieran su control. Los autores concluyeron que este sistema de vigilancia es de vital importancia, ya que busca recopilar y analizar los datos de resistencia de aislamientos obtenidos de alimentos, animales, fuentes ambientales y fuentes humanas. COIPARS ha identificado a *Salmonella spp.*, y *Campylobacter spp.*, como los patógenos de transmisión alimentaria de mayor importancia para la salud pública en Colombia. Además, en la actualidad, es conocido que la infección por agentes con mecanismos de resistencia adicionales, pueden ocasionar una mortalidad más alta que cuando se compara con la mortalidad de infecciones por cepas salvajes (Arenas, 2018).

En junio del 2016, la OPS instó a la búsqueda y detección de enterobacterias con resistencia a colistina y en agosto de 2017, el INS y el INVIMA lanzaron la alerta epidemiológica por la detección del gen *mcr-1* (responsable de la resistencia a colistina) en cepas de *Salmonella spp.*, provenientes de carne cruda y chorizo. La demostración de estos genes en aislamientos bacterianos fue considerada una emergencia de alto impacto relacionada de forma directa con el abuso de la colistina como promotor de crecimiento en animales. En ese mismo año, Cavaco y cols., describieron tres aislamientos de *Enterococcus faecalis* recuperados a partir de pollos que fueron positivos para el gen *optrA* que codifica para la resistencia a linezolid. Estos aislamientos habían mostrado una sensibilidad disminuida al antibiótico; pero se encontraron negativos al tamizaje de los genes de resistencia descritos hasta el momento y solo con la descripción del nuevo gen, fue posible identificar el mecanismo de resistencia presente. Esta fue la primera descripción del gen *optrA* recuperado de aislados microbianos en pollos de Latinoamérica (Cavaco, 2017).

Por otra parte, en el estudio publicado por Vélez y cols., en Ibagué, se encontró que el 100 % de los aislamientos de *Salmonella spp.* (n:47) aislados de canales de pollo crudo, mostraron resistencia a cinco o más antibióticos, y que en los casos de *S. paratyphi B var java*, los aislamientos mostraron resistencia a al menos 12 antibióticos (Vélez, 2017).

Finalmente, en 2018, Arenas y Melo publicaron una revisión sistemática de la emergencia de la RAM en Colombia relacionada con su uso en la producción pecuaria. Este documento es tal vez, la revisión más completa, hasta el momento, que incluye la normatividad nacional y un recuento de casos de aislamientos con resistencia antibiótica en actividades pecuarias o relacionados con el consumo de alimentos contaminados con patógenos resistentes (Arenas, 2018).

## **DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES**

Los animales de consumo son considerados los principales reservorios de bacterias con resistencia antibiótica y, por lo tanto, la principal fuente para su diseminación (Founou, 2016; Verraes, 2013). La aparición de estas bacterias multiresistentes, podría ser producto de la implementación de prácticas inadecuadas en torno al componente de sanidad animal (Arenas, 2018).

Es necesario considerar que los productos alimenticios pueden estar contaminados con antibióticos, bacterias resistentes a los antibióticos o genes de resistencia antimicrobiana y que las bacterias con RAM pueden llegar a los seres humanos indirectamente a través de la cadena alimentaria por alimentos contaminados; o directamente, por medio del contacto con animales colonizados o infectados o sus líquidos biológicos (Chang, 2015).

La presencia de patógenos con RAM puede estar también relacionada con fuentes medio ambientales como ríos, lagos, mares y suelos, lo que los podría convertir en reservorios o focos de contaminación. (Agudelo-Londoño, 2012; Wellington, 2013).

Entre las consecuencias de la ingestión de bacterias patógenas con RAM, éstas presentan un riesgo inmediato en la salud pública ya que podrían generar fracasos terapéuticos y un aumento en el número de recaídas; así también como la transferencia de esos mecanismos de resistencia a la biota intestinal del hospedador (Verraes, 2013).

En el caso de los antimicrobianos como la colistina, su uso debería estar limitado al tratamiento de animales afectados clínicamente y su uso como profilaxis debe ser prohibido, bajo el principio del uso responsable de los antimicrobianos y en procura de evitar la diseminación de bacterias con resistencia a este antibiótico.

Por todo lo anterior, el enfoque para frenar la transmisión de bacterias con RAM debe ser multidisciplinario y en él, se hace necesario sensibilizar a todos los eslabones de la cadena alimentaria (Donado-Godoy, 2012). El problema se refiere no solo a la transmisión por alimentos, sino también a la portación asintomática de bacterias y mecanismos de resistencia que pueden ser transferidos silenciosamente y en donde el comercio, los viajes y la emigración juegan un papel clave en su diseminación.

Además, son necesarios estudios adicionales para establecer la relación entre los aislamientos de la industria alimentaria y los aislamientos clínicos (Vélez, 2017), así como la educación y la actualización permanente de los bacteriólogos y microbiólogos en la detección de los mecanismos de resistencia desde cepas de distinto origen (ambiental, clínico, animales o alimentos).

La implementación de todas estas medidas podría generar un avance en la comprensión general de los mecanismos de resistencia bacteriana, su modo de transmisión y las enfermedades infecciosas asociadas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agudelo-Londoño P, Rivera-Caycedo J, Bernal-Vera M, Castaño-Ramírez E, 2012. Caracterización del riesgo de contaminación por actividades pecuarias en el río Molinos, Villamaría (Caldas, Colombia). *Veterinaria y Zootecnia* 6(2):56-82.
- Arenas, NE, Melo, VM, 2018. Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática. *Infectio* 22(2),110-119.
- Bauer, AW, Kirby, WM, Sherris JC, Turck M, 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology* 45(4-ts) 493-496.
- Bondi A, Spaulding EH, Smith DE, Dietz CC, 1947. A routine method for the rapid determination of susceptibility to penicillin and other antibiotics. *Am. J. M. S c, SIS:* 221-225.
- Cavaco LM, Bernal JF, Zankari E, León M, Hendriksen RS, Perez-Gutierrez, E., ... Donado-Godoy P, 2016. Detection of linezolid resistance due to the *optrA* gene in *Enterococcus faecalis* from poultry meat from the American continent (Colombia). *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(3), 678-683.
- Center for Disease Dynamics, Economics & Policy CDDEP State of the world's antibiotics [Internet]. Washington, D.C; 2015. Available from: [http://cddep.org/sites/default/files/swa\\_2015\\_final.pdf](http://cddep.org/sites/default/files/swa_2015_final.pdf) Accesed 24 mayo 2019
- CLSI. Methods for antimicrobial Disk Susceptibility Testing of Bacteria isolated from aquatic animals; Approved guidelines CLSI Document Vet 03-A. Wayne, P.A: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.
- CLSI-a. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 13th Edition. CLSI Standard M02. Wayne, P.A: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- CLSI-b. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals. 4th ed. CLSI supplement VET08. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
- Donado-Godoy, P, Gardner I, Byrne BA, Leon M, Perez-Gutiérrez E, Ovalle MV, ... Miller W, 2012. Prevalence, risk factors, and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella* from commercial broiler farms in two important poultry-producing regions of Colombia. *Journal of food protection*, 75(5), 874-883.

Donado- Godoy P, Castellanos R, León M, Arévalo A, Clavijo V, Bernal J, Pérez- Gutiérrez E, 2015. The establishment of the Colombian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (COIPARS): a pilot project on poultry farms, slaughterhouses and retail market. *Zoonoses and public health*, 62, 58-69.

Antimicrobial Resistance Surveillance (COIPARS): a pilot project on poultry farms, slaughterhouses and retail market. *Zoonoses and public health*, 62, 58-69.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) 2015. Status Report on Antimicrobial Resistance. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Founou LL, Founou RC, Essack, SY, 2016. Antibiotic resistance in the food chain: a developing country-perspective. *Frontiers in microbiology* 7, 1881.

Instituto Nacional de Salud. Colombia. Grupo de Microbiología Subdirección Laboratorio Nacional de Referencia. Dirección Redes en Salud Pública. Alerta Epidemiológica: Alerta por la primera detección del gen *mcr-1* de resistencia al antibiótico colistina en aislamientos de *Salmonella typhimurium* y *Salmonella give* en alimentos en Colombia. Bogotá, 2 de agosto de 2017.

Jerke K, Lee M, Humphries R, 2016. Polymyxin susceptibility testing: a cold case reopened. *Clinical Microbiology Newsletter*. 38(9):69-77.

Karczmarczyk M, Martins M, McCusker M, Mattar S, Amaral L, Leonard N, ... & Fanning S, 2010. Characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* food and animal isolates from Colombia: identification of a *qnrB19*-mediated quinolone resistance marker in two novel serovars. *FEMS microbiology letters*, 313(1), 10-19

Máttar S, Calderón A, Sotelo D, Sierra M, Tordecilla G, 2009. Detección de antibióticos en leches: un problema de salud pública. *Rev. Salud Pública*. 11(4):579-90.

Méndez IA, Badillo CA, Parra GO, Faccini AA, 2011. Caracterización microbiológica de *Salmonella* en alimentos de venta callejera en un sector universitario de Bogotá, Colombia. Julio a octubre de 2010. *Revistas médicas UIS*, 24(1)

- Morley DC, 1945. A simple method of testing the sensitivity of wound bacteria to penicillin and sulfathiazole by use of impregnated blotting paper discs. *J. Path. & Bact.* 57: 379-382.
- Morosini MI, Cercenado E, Ardanuy C, Torres C, 2012. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos grampositivos. *Enfermedades Infecciosas y microbiología clínica*, 30(6), 325-332.
- Navarro F, Calvo J, Cantón R, Fernández-Cuenca F, Mirelis B, 2011. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en microorganismos gramnegativos. *Enfermedades Infecciosas y microbiología clínica*, 29(7), 524-534.
- O'Neill J, 2016. Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations. HM Government and Wellcome Trust: UK
- Organización Mundial de la Salud, 2016. Alerta Epidemiológica: Enterobacterias con resistencia transferible a colistina, implicaciones para la salud pública en las Américas. <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2016/2016-jun-10-alerta-epi-enterob-resist.pdf>.
- Ruiz-Bolívar Z, Neuque-Rico MC, Poutou-Pinales RA, Carrascal-Camacho AK, Mattar S, 2011. Antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* food isolates from different cities in Colombia. *Foodborne pathogens and disease*, 8(8), 913-919.
- Vélez DC, Rodríguez V, García NV, 2017. Phenotypic and Genotypic Antibiotic Resistance of *Salmonella* from Chicken Carcasses Marketed at Ibagué, Colombia. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19(2), 347-354.
- Verraes C, Van Boxtael S, Van Meervenne E, Van Coillie E, Butaye P, Catry B, ... Daube G, 2013. Antimicrobial resistance in the food chain: a review. *International journal of environmental research and public health*, 10(7), 2643-2669.
- Wellington EM, Boxall AB, Cross P, Feil EJ, Gaze WH, Hawkey PM, 2013. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in gram-negative bacteria. *Lancet Infect Dis.* 13(2):155-65.
- Wendlandt S, Shen J, Kadlec K, Wang Y, Li B, Zhang W-J, 2015. Multidrug resistance genes in staphylococci from animals that confer resistance to critically and highly important antimicrobial agents in human medicine. *Trends Microbiol.* 23(1):44-54.

- World Health Organization, 2017. Critically important antimicrobials for human medicine: ranking of antimicrobial agents for risk management of antimicrobial resistance due to non-human use. <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s22251en/s22251en.pdf> Accessed 31 may 2019.
- World Health Organization – WHO, 2015. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Geneva: World Health Organization.
- World Organization for Animal Health - OIE, 2013. OIE list of antimicrobial agents of veterinary importance. <https://www.oie.int/doc/ged/D9840.PDF> Accessed 4 june 2019.