

**BIOCONSERVANTES EN PRODUCTOS CÁRNICOS: IMPLICACIONES
FRENTE A LOS PRINCIPALES REFERENTES REGULATORIOS EN *Listeria
monocytogenes***

DENIS ALEJANDRA VELASCO BRICEÑO



Universidad de
La Sabana

*Facultad de Ingeniería
Maestría en Diseño y Gestión de Procesos.*

2018

**BIOCONSERVANTES EN PRODUCTOS CÁRNICOS: IMPLICACIONES
FRENTE A LOS PRINCIPALES REFERENTES REGULATORIOS EN *Listeria
monocytogenes***

DENIS ALEJANDRA VELASCO BRICEÑO

Trabajo de grado para optar por el título de:

MAGISTER EN DISEÑO Y GESTIÓN DE PROCESOS

Énfasis en Alimentos

DIRECTORA

INDIRA SOTELO DÍAZ Ph.D

*Universidad de La Sabana,
Facultad de Ingeniería
Maestría en Diseño y Gestión de Procesos.*

2018

Agradecimientos

Agradezco infinitamente a Dios, por brindarme la oportunidad de crecer como profesional y como persona en esta etapa de mi vida; por llevarme siempre de su mano y acompañarme con su gran amor. Agradezco inmensamente a mis papas y a mi hermano por apoyarme siempre y ser esa voz de aliento, motivación y de guía constante, para alcanzar mis sueños y mis metas.

Agradezco enormemente a mi Tutora, Indira Sotelo Díaz, por guiarme y orientarme en este proceso de aprendizaje y de crecimiento académico y personal. Para la elaboración de esta monografía, la cual contribuyó a la formación en la modalidad de profundización del programa de Maestría en Diseño y Gestión de Procesos en el énfasis de Alimentos, con el análisis particular del contexto de los bioconservantes para industria cárnica.

Agradezco también a al grupo Jeronimo Martins Colombia, por brindarme la oportunidad y el espacio de cumplir mis metas y apoyarme en mis sueños profesionales.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
Resumen	1
1. Introducción	3
2. Objetivos	6
2.1 Objetivo general	6
2.2 Objetivos específicos	6
3. Planteamiento del problema	7
4. Metodología	9
4.1 Búsqueda de la información y literatura	9
4.2 Análisis y evaluación de la información y literatura.....	9
4.3 Revisión específica de palabras claves en Science Direct y Google Patents.....	10
4.4 Análisis detallado de la información.....	10
5. Inocuidad de Productos cárnicos en función de los principales patógenos asociados a la Industria Cárnica	11
5.1 Clasificación de los Productos Cárnicos	11
5.2 Principales patógenos asociados a la industria cárnica	13
5.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	14
5.3.1 Mecanismos moleculares de patogenicidad.....	16
5.3.2 Quorum Sensing	18
5.3.3 Listeriosis y manifestaciones clínicas	19
5.3.4 Implicaciones de <i>Listeria monocytogenes</i> en retail	22
5.3.5 Incidencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en Colombia	24

6. Marco General para la bioconservación en productos cárnicos.....	29
6.1 Cultivos protectores	30
6.2 Bacteriocinas	33
6.3 Acido Orgánicos	39
6.4 Lisozima	40
6.5 Otros compuestos antimicrobianos de origen natural.....	41
6.6 Bioconservantes comerciales	42
7. Marco regulatorio en bioconservantes específicamente frente a <i>Listeria monocytogenes</i>.....	44
8. Gestión del Riesgo	50
8.1. Importancia de Gestión de Riesgo en la Inocuidad Alimentaria.....	51
8.2. Gestión de riesgo en <i>Listeria monocytogenes</i> para productos cárnicos.....	52
8.3. Proyección de los resultados	55
9. Conclusiones.....	56
10. Recomendaciones.....	57
11. Bibliografía	58

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Nitritos y nitratos como conservantes	7
Tabla 2. Límites de supervivencia y multiplicación para <i>L. monocytogenes</i>	16
Tabla 3. Prevalencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en carnes y derivados cárnicos en Colombia.....	24
Tabla 4. Resultados de <i>Listeria monocytogenes</i> en derivados cárnicos por monitoreo de Invima.....	26
Tabla 5. Resultados patógenos en Derivados Cárnicos por Vigilancia de Secretarías de Salud Departamentales y Grupo de Trabajo Territorial	27
Tabla 6. Compuestos antimicrobianos de origen biológico.....	31
Tabla 7. <i>Bacteriocinas representativas producidas por BAL</i>	34
Tabla 8. Ventajas de la aplicación de bacteriocinas en productos cárnicos.....	38
Tabla 9. <i>Aplicaciones de antimicrobianos naturales</i>	41
Tabla 10. Casas comerciales y cultivos protectores	43
Tabla 11. Tolerancia para <i>Listeria monocytogenes</i>	45
Tabla 12. Concentraciones máximas permitidas de Nisina por países	46

Tabla 13. Consideraciones de la Legislación Internacional para la Gestión del Riesgo en <i>Listeria monocytogenes</i>	54
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Organización transcripcional y física del grupo de genes de virulencia (LIPI-1) de <i>Listeria monocytogenes</i>	17
Figura 2. Representación de la comunicación de bacterias a bacterias a través de la transferencia y recepción de los cuatro tipos de moléculas de señalización.....	19
Figura 3. Línea de tiempo para vincular un caso de infección por <i>Listeria</i> con un brote	21
Figura 4. Casos de listeriosis en la Unión Europea 2008- 2012	22
Figura 5. Resumen de los ambientes que ocurren a lo largo del continuo de la granja al tenedor que pueden influir en el desarrollo, mantenimiento y selección de la resistencia antimicrobiana (AMR) en <i>L. monocytogenes</i>	23
Figura 6. Publicaciones referentes a bioconservación en carnes con énfasis en <i>Listeria monocytogenes</i> (2008-2017)	48
Figura 7. Resultado de las búsquedas con palabras claves en bases de patentes....	49

Figura 8. Factores que impulsan los cambios en la gestión de inocuidad de los alimentos	51
--	-----------

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Glosario de Siglas.....	66
Anexo 2. Artículo: BIOCONSERVACION PARA LA INDUSTRIA CÁRNICA COLOMBIANA ¿ EMPLEO DE NISINA ALGO POR RESOLVER?	67
Anexo 3. Resolución 4125 de 1991	72
Anexo 4. Codex Stan 192-1995. Revisión 2016	73
Anexo 5. NTC 1325	74
Anexo 6. Norma Higiénica para uso de Aditivos Alimentarios.....	75
Anexo 7. Artículo 286 del Código Alimentario Argentino.....	76

RESUMEN

Los consumidores y las industrias hoy por hoy están interesados en adquirir y consumir alimentos libre de patógenos, con la menor cantidad de aditivos (químicos o biológicos), que no alteren las características sensoriales y que cumplan con la legislación y los referentes normativos a un nivel global; por lo tanto este trabajo busca condensar los diferentes marcos regulatorios no solo a nivel nacional sino internacional que rigen en la actualidad la adición de conservantes de origen biológico, y así dar una mirada a las posibles brechas que en este aspecto se tengan entre lo permitido en Colombia y lo que se permite por organizaciones de reconocimiento Internacional, así mismo, se considera la importancia que tiene la inocuidad de los alimentos y la bioconservación de los mismos. De manera particular en este trabajo, busca revisar el estado del arte de los bioconservantes, haciendo un énfasis en nisina y un acercamiento a lizosima, para la aplicación frente a *Listeria monocytogenes* definidos o aprobados por las organizaciones regulatorias en Colombia y en el mundo para productos embutidos crudos, cocidos y madurados a través de una revisión sistemática de información de fuentes reconocidas a nivel internacional que pueden generar herramientas para la toma de decisiones conscientes en cuanto a la dosificación y uso de bioconservantes en productos cárnicos a nivel industrial. Así mismo, se busca revisar el estado del estado del arte en Science Direct y Google Patents utilizando las palabras claves: Meat + *Listeria monocytogenes* + Biopreservation + Regulation. Se encontró que entre el año 2006 y 2014 las publicaciones incrementaron en un 98.58%. En línea con la relevancia que ha adquirido *Listeria monocytogenes* en cárnicos y su influencia en los marcos normativos y para el sector industrial, de 54 resultados solo el 24% hace referencia a legislación para *Listeria monocytogenes*. En conclusión, el bioconservante más utilizado y referenciado en los diferentes países es la Nisina, que es adicionada en un rango de 7mg/kg hasta 500 mg/kg de producto. En Colombia se excede hasta cuatro veces la adición permitida por el Codex Alimentarius.

Palabras claves: Bioconservantes, Normatividad, Vida Útil, *Listeria monocytogenes*.

1. Introducción

La carne y los productos cárnicos se consideran una fuente importante de proteínas, zinc, hierro y aminoácidos esenciales. Esta se define como un músculo esquelético y sus tejidos asociados (incluidos los nervios, tejidos conectivos, vasos sanguíneos, piel, grasa considerados inocuos y aptos para el consumo humano (Bohrer, 2017). La calidad de la proteína está determinada por las cantidades relativas de aminoácidos esenciales, es decir, aminoácidos que no pueden ser sintetizados por el cuerpo humano (Van Mierlo, Rohmer y Gerdessen, 2017).

Los tejidos profundos de los animales sacrificados en condiciones de Buenas Prácticas de Manufactura son estériles desde el punto de vista práctico (Guerrero y Taylor, 1994; Rodríguez, 1996). Por ello, el perfil microbiológico de la carne fresca presentado a los consumidores es la suma de los cuidados durante las operaciones de faena, condiciones de almacenamiento, transporte y distribución.

Teniendo en cuenta que un punto clave de la seguridad alimentaria es garantizar el acceso y la inocuidad de los alimentos, las Buenas Prácticas Pecuarias contribuyen sustancialmente a la oferta de alimentos sanos, en cantidad y calidad para todos los consumidores. Para La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), las Buenas Prácticas Pecuarias (BPP), consisten en *“la aplicación del conocimiento disponible a la utilización sostenible de los recursos naturales básicos para la producción, en forma benévola, de productos agrícolas alimentarios y no alimentarios inocuos y saludables, a la vez que se procuran la viabilidad económica y la estabilidad social”*; esta definición nos sugiere que las BPP no deben ser promovidas solamente como el cumplimiento de una norma o protocolo que busca garantizar la inocuidad de los alimentos o como una serie de requisitos a alcanzar para acceder a mercados externos exigentes (Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación (MAGyP), 2012).

El desarrollo tecnológico en el procesamiento y preservación de los alimentos ha

proporcionado a los consumidores una gran selección de alimentos con una amplia vida útil. Consecuentemente, los compradores y consumidores de carne y sus derivados han sido más selectivos y más conscientes de la calidad. Desde que la carne es procesada, distribuida y vendida hasta el retail (a menudo lejos del procesador primario), éste debe emplear métodos para asegurar la preservación. Tales métodos deben ser capaces de inhibir o atenuar el crecimiento tanto de los organismos patógenos como los alteradores, además de prolongar la vida útil y mantener la calidad.

Los alimentos han sido conservados debido a la acción de las bacterias ácido lácticas, las cuales se producen naturalmente en diferentes fuentes de alimentos y se han utilizado durante siglos en la fermentación de los mismos, convirtiéndose en parte de la dieta humana sin ningún efecto adverso para la salud y se proponen como perfectos frente a los conservantes químicos (Varsha y Nampoothiri, 2016). El término bioconservante hace referencia a aquella sustancia de origen natural que posee una actividad antimicrobiana y así mismo es capaz de detener o reducir el deterioro de los alimentos (Devlieghere, Vermeulen y Debevere, 2004).

Sin embargo, las interacciones indeseables de estos agentes activos con componentes de los alimentos reducen su eficacia contra ciertos agentes patógenos. Lo anterior conlleva al aumento en la cantidad de bioconservante adicionado, con el fin de garantizar la reducción de agentes microbianos patógenos (como *Listeria monocytogenes*), algunos de ellos tan nocivos que podrían no solo distorsionar la calidad organoléptica, sino ocasionar enfermedades graves o incluso la muerte a los consumidores y sumado a lo anterior esta solución acarrea consecuencias en cuanto al uso indiscriminado de bioconservantes, ya que se han originado problemas de resistencia en algunos microorganismos.

Listeria monocytogenes es una bacteria que está ampliamente distribuida en el medio ambiente y se ha aislado a partir de una variedad de fuentes, incluyendo el suelo, la

vegetación, el ensilaje, materias fecales, aguas residuales y agua. Esta frecuentemente presente en alimentos crudos tanto de origen vegetal y animal, y se puede encontrar en alimentos cocinados debido a la contaminación post-procesamiento. Se ha aislado de leche pasteurizada, queso, helados, verduras crudas, carnes fermentadas y embutidos cocidos y crudos, entre otros (Álvarez-Ordóñez et al. 2015). En este ámbito, *Listeria monocytogenes* es un patógeno que causa listeriosis, una importante enfermedad que genera preocupación para el sector cárnico y, en especial, para las empresas productoras y comercializadoras de productos cárnicos listos para su consumo (LPC).

Esta revisión como trabajo de monografía contribuye a la formación de Maestría como análisis de la situación particular de aplicación de bioconservantes para la industria cárnica colombiana. Así, cumplió con el objetivo de establecer los criterios de aplicación de bioconservantes en productos cárnicos embutidos crudos, cocidos y madurados según los principales referentes regulatorios a nivel nacional e internacional, logrando conocer las concentraciones más indicadas para utilizarlas en las industrias. Se identificó y clasificó las sustancias antimicrobianas o microorganismos bioconservantes en la producción de embutidos crudos, cocidos y madurados, teniendo en cuenta una revisión sistemática cualitativa.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Determinar las condiciones de aplicación de dosis máximas permitidas para el uso de bioconservantes, en productos embutidos crudos, cocidos y madurados, definidos o aprobados por las principales organizaciones de regulación en Colombia y en el mundo, para *Listeria monocytogenes*.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar y clasificar las sustancias antimicrobianas o microorganismos bioconservantes de acuerdo con su espectro de uso para la producción de embutidos cocidos y madurados.
- Establecer los criterios de aplicación de bioconservantes reconocidos por las entidades nacionales: INVIMA; internacionales: EFSA CODEX JECFA y FDA, según el tipo de producto y el método de aplicación.

3. Planteamiento del Problema

La principal causa de deterioro de los alimentos es la actividad de los microorganismos (bacterias, levaduras y mohos). El problema de las alteraciones microbianas de los alimentos tiene implicaciones económicas, tanto para los fabricantes (deterioro de materias primas y productos elaborados, pérdida de la imagen de marca, etc.) como para distribuidores y consumidores (deterioro de productos después de su adquisición y antes de su consumo) (McDonald y Sun, 1999). A los métodos físicos, como el calentamiento, deshidratación, irradiación o congelación, se le sumaron métodos, con sustancias químicas que causan la muerte de los microorganismos o que inhiben su crecimiento (Settanni y Corsetti, 2008)

Adicionalmente, la industria cárnica recurre en muchos casos a la incorporación de los conservantes químicos autorizados en el caso de la Unión Europea (*Reglamento (UE) N° 1129/2011*), como el dióxido de azufre, sulfitos, nitratos, nitritos y acetato potásico (Riesco et al., 2016). Entre los conservantes más polémicos se destacan las sales de nitrato y nitrito (Tabla 1), ya que en alimentos sometidos al asado pueden formar compuestos cancerígenos denominados “nitrosaminas”. Adicionalmente dichos compuestos no están autorizados en carnes picadas, ya que mantienen la apariencia de fresca y podrían convertirse en coadyudantes de adulteración.

Tabla 1. Nitritos y nitratos como conservantes

Nombre	Características tecnológicas de uso	Aplicación	Efectos y límites de ingesta
Nitratos y Nitritos	<p>Forma un compuesto rojo oscuro brillante.</p> <p>Retrasa el proceso de oxidación de los lípidos.</p> <p>Producen mayor firmeza en la textura.</p> <p>Impide el crecimiento de microorganismos patógenos como <i>Clostridium botulinum</i>.</p>	<p>Productos cárnicos adobados y curados.</p> <p>Productos cárnicos embutidos.</p>	<p>El nitrito se une a la hemoglobina, e impide el transporte de oxígeno.</p> <p>En mujeres embarazadas los nitritos pueden atravesar la placenta causando metahemoglobinemia fetal.</p> <p>El comité conjunto de la FAO/OMS recomiendan que la Ingesta Diaria Aceptable (IDA) sea como máximo en nitritos 0,06 mg/kg peso y en nitratos: 3,7 mg/kg peso.</p>

Fuente: (Antón & Lizaso, n.d., 2001)

Sumado a lo anterior, hoy en día los consumidores demandan alimentos “libres de”, una tendencia ya establecida en el mercado alimentario y que continuará en los próximos años (Riesco et al., 2016). Así, la presencia de conservantes químicos suele percibirse de forma negativa, por lo cual, la industria cárnica (y la industria alimentaria, en general) debe plantearse la aplicación de conservantes naturales que permitan la sustitución parcial o completa de los conservantes químicos. En este sentido, las técnicas de bioconservación constituyen una alternativa. Consisten en la adición en el alimento de microorganismos vivos (productores de sustancias antimicrobianas) o sus metabolitos, de manera que se pueda producir un efecto inhibitorio o letal sobre bacterias alterantes o patógenas, manteniéndose así su seguridad y vida útil.

4. Metodología

Para el cumplimiento de los objetivos planteados, se realizó una revisión sistemática, en la cual se desarrollaron diferentes etapas para su elaboración, a partir del planteamiento del problema se desarrollaron en cuatro etapas. En la primera, se realizó la recopilación de información de forma sistemática, teniendo en cuenta la identificación de estudios, en la cual se verificaron diversos estudios consignados en bases de datos, libros, documentos especializados, normas, resoluciones y lineamientos gubernamentales nacionales e internacionales. La segunda etapa, consistió en el análisis de la información para seleccionarla según los criterios de inclusión y exclusión. La tercera etapa, contempló una revisión con palabras claves específicas en Science Direct y Google Patents. La cuarta y última etapa, fue un análisis detallado de la información, realizando una organización, evaluación, y selección para identificar y dar respuesta a la revisión propuesta.

4.1 Búsqueda de la información y literatura

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica a partir de artículos de investigación publicados en las bases de datos: Science Direct, PubMed y Redalyc. Así, como en libros, documentos especializados, normas, resoluciones y lineamientos gubernamentales nacionales e internacionales. Se utilizaron diferentes palabras claves en la búsqueda de artículos y de normas, empleando las siguientes palabras claves: bioconservantes, normatividad, vida útil, *Listeria monocytogenes*, nisina, lisozima, *Carnobacterium*, Codex Alimentarius, FAO, Bacterias Acido Lácticas, Gestión del Riesgo, Colombia.

4.2 Análisis y evaluación de la información y literatura

Criterios de inclusión y exclusión de estudios: se tomaron como criterios de inclusión, los artículos y las normas con términos de búsqueda en el título y/o

resumen, estudios originales, idioma inglés o español. Los criterios de exclusión fueron establecidos como los artículos o normas que no favorezcan al objetivo de esta revisión al no hacer explícitas para determinar las condiciones de aplicación de dosis máximas permitidas para el uso de bioconservantes, en productos embutidos crudos, cocidos y madurados junto con estudios que presentaran sesgos en la información. No fueron filtrados años de publicación para la búsqueda.

4.3 Revisión específica de palabras claves en Science Direct y Google Patents

Se realizó una búsqueda específica con las siguientes claves:

- Meat + *Listeria monocytogenes* + Biopreservation
- Meat + *Listeria monocytogenes* + Biopreservation + Regulation
- Meat + *Listeria monocytogenes* + Biopreservation + Legislation

Esto, con el fin de establecer cuáles son los impactos que se presentaban en las industrias cárnicas frente a la presencia de *Listeria monocytogenes*, los bioconservantes utilizados y la legislación existente.

4.4 Análisis detallado de la información

Con la información recopilada y con el análisis de la misma se logró realizar la evaluación de las condiciones de aplicación de dosis máximas permitidas para el uso de bioconservantes, en productos embutidos crudos, cocidos y madurados, definidos o aprobados por las principales organizaciones de regulación en Colombia y en el mundo, para *Listeria monocytogenes*. Teniendo en cuenta la gestión del riesgo, el retail y la situación actual del estudio del microorganismo en Colombia.

5. Inocuidad de productos cárnicos en función de los principales patógenos asociados a la industria cárnica

5.1 Clasificación de los productos cárnicos

Las clasificaciones de los productos cárnicos son diversas y se basan en criterios tales como los tipos de materias primas que los componen, la estructura de su masa, si están o no embutidos, si se someten o no a la acción de calor o algún otro proceso característico en su tecnología de elaboración, la forma del producto terminado, su durabilidad o cualquier otro criterio o nombres derivados de usos y costumbres tradicionales (Venegas y Valladares, 1999). A continuación, se presentarán clasificaciones de estos productos según los países o regiones del mundo.

<i>Clasificación según la legislación Española</i>						
Frescos	Crudos-adobados	Crudos-curados	Tratados por el calor	Salazones cárnicas	Platos preparados	Otros derivados cárnicos

Fuente: Carballo BM, López de Torre G. 1991

<i>Clasificación según la legislación Francesa (diferenciados entre sí por las características de las materias primas)</i>			
Por piezas saladas	Por mezclas de carnes picadas	A base de carne y despojos comestibles	A base de sangre

Fuente: Flores J. 1977.

<i>Clasificación según la legislación Cubana</i>						
Salados	Ahumados	Enlatados	Productos tipo español	Embutidos	Otras carnes en conserva	Otros productos

Fuente: Unión Cárnica 1988.

<i>Clasificación según la legislación Alemana</i>		
Crudos (que se dividen a su vez en dos)		Cocidos: Tratados térmicamente (se elaboran principalmente de materias primas cárnicas previamente cocidas)
Untables	De corte	Escaldados, tratados con calor y se elaboran generalmente con materias primas cárnicas crudas

Fuente: Reuter H. 1979.

Clasificación según la legislación Colombiana		
Productos procesados cocidos	Productos procesados crudos	Productos procesados enlatados

Fuente: Decreto 2162 de 1983

Clasificación según la legislación Colombiana			
Productos cárnicos procesados crudos frescos o congelados o precocidos congelados o no.	Productos cárnicos procesados crudos madurados o fermentados o ambos	Productos cárnicos procesados cocidos	Producto cárnico procesado crudo madurado de pieza entera

Fuente: NTC 1325 Quinta actualización.

Clasificación según la legislación Argentina						
Salazones		Embutidos			No embutidos	
Crudos	Cocidos	Frescos	Secos	Cocidos	Preformados	Arrollados

Fuente: Código Alimentario Argentino, Capítulo VI

Adicionalmente en pro de establecer una sola clasificación el CODEX ha estipulado la siguiente clasificación con el fin de hacer una armonización de las diversas clasificaciones que se han dado.

Clasificación según el CODEX (Carne y productos cárnicos, incluidos los de aves de corral y caza)								
Carne fresca, incluida la de aves de corral y caza		Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, en piezas enteras o en cortes			Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados y elaborados			Tripas comestibles (p. ej. para embutidos)
Carne fresca, incluida la de aves de corral y caza, en piezas enteras o en cortes	Carne fresca picada, incluida la de aves de corral y caza	Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados sin tratar térmicamente, en piezas enteras o en cortes	Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, tratados térmicamente en piezas enteras o en cortes	Productos cárnicos, de aves de corral y caza elaborados, congelados, en piezas enteras o en cortes	Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados y elaborados sin tratar térmicamente	Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados, elaborados y tratados térmicamente	Productos cárnicos, de aves de corral y caza picados, elaborados y congelados	

Fuente: CODEX ALIMENTARIUS, 2013)

5.2 Principales patógenos asociados a la industria cárnica

La carne (principalmente la cruda) además de ser altamente susceptible a deterioro, también puede constituir un vehículo para la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) (Bhandare, Sherikar, Paturkar, Waskar y Zende, 2007). Durante el sacrificio y procesamiento, todos los tejidos potencialmente comestibles pueden estar sujetos a contaminación por diversas fuentes, ya sea interna o externa al animal. En animales vivos, las superficies en contacto con el medio ambiente albergan una variedad de microorganismos, por lo que en muchas ocasiones los contaminantes se derivan de la piel del animal, o bien, de aquellos presentes en heces. Sin embargo, se ha determinado que las carnes procesadas son más susceptibles a contaminarse con microorganismos patógenos durante las diferentes etapas de su procesamiento (Datta y col., 2012). La presencia de patógenos en la cadena de producción de un alimento, aún en bajos números, es indeseable y se considera como la mayor causa de enfermedades gastrointestinales alrededor del mundo (McDonald y Sun, 1999).

Para tratar de determinar la calidad microbiológica de la carne, frecuentemente se utiliza la búsqueda y cuantificación de microorganismos indicadores, los cuales, aunque pueden no ser patógenos, su presencia indica la probabilidad de que también pueden estar presentes microorganismos patógenos (Wolffs y Radstrom, 2006). Estas determinaciones incluyen el recuento de bacterias mesófilas, coliformes totales, bacterias del grupo *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus fecales* y *Aeromonas* (Algino, Badtram, Ingham y Ingham, 2009); aunque también se ha sugerido incluir en este rubro de indicadores a bacterias como *Listeria spp.*, *Enterococos* y *Bifidobacterias* (Delcenserie et al., 2008; Gill y Jones, 1995).

Los microorganismos patógenos que históricamente se han asociado a brotes por el consumo de carne, incluyen *Salmonella*, *E. coli* O157:H7 y no-O157 productoras de toxina shiga (STEC), *Listeria*, *Campylobacter*, *Clostridium perfringens* y *Yersinia*, aunque los primeros tres se ha reportado que actualmente son los más importantes como patógenos en carne de res (Koochmaraie et al., 2005). Se ha establecido que para algunos microorganismos tales como *Listeria monocytogenes*, *S. aureus* y *Clostridium spp*, las principales medidas para lograr su control se enfocan en intervenciones durante las últimas etapas de la producción de la carne (Nørrung, Andersen y Buncic, 2009).

Los principales peligros microbianos de los productos cárnicos son *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Campylobacter* y *Staphylococcus aureus*. Hay otros peligros microbianos menores que deben tenerse en cuenta como *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium*, aminas biogénicas formadoras de bacterias y también hongos que producen micotoxinas. Considerando los datos disponibles en los informes de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) y la base de datos de vigilancia de Food Net durante 1983 y 1997, la salmonelosis y la listeriosis representan el 31% y el 28% del total de muertes relacionadas con alimentos, respectivamente, mientras que *Campylobacter* y *E. coli* representa 5% y 4.3%, y *Staphylococcus aureus* solo 0.8% (Nollet & Toldrá, 2006).

5.3 *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes es un patógeno emergente. Los procesos que originan estas bacterias pueden ser muy graves, pudiendo, en fetos, neonatos, niños y ancianos, ocasionar secuelas que perduran toda la vida del paciente e incluso la muerte. *Listeria monocytogenes* es una bacteria ampliamente difundida en la naturaleza. Su presencia en los alimentos está determinada por su extensa distribución en el ambiente - tierra, aguas servidas, materia fecal, vegetación, ensilados y entorno de la producción de alimentos - lo que confiere una importante oportunidad para

contaminarlos. (Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ., 2005). El descubrimiento oficial de *Listeria* se remonta a 1929 y en 1940 se recomendó su denominación como *Listeria monocytogenes*, mientras que los primeros casos de listeriosis humana se identificaron en Dinamarca en 1929. Igualmente, durante muchos años los aislamientos de *Listeria* se consideraron un mero hallazgo de laboratorio y la epidemiología de la enfermedad un misterio sin resolver. Sin embargo, hacia el final de los años 70 y el inicio de los 80 los aislamientos de *Listeria* de alimentos se incrementaron y a partir de 1983, una serie de brotes epidémicos de listeriosis en la especie humana establecieron claramente el origen alimentario de la enfermedad. (Elika, 2006).

El género *Listeria* comprende un grupo de bacterias Gram-positivas relacionadas con otras de los géneros *Bacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Staphylococcus*. Los microorganismos del género *Listeria* son bacilos anaerobios facultativos que no forman esporas ni contienen cápsula y se aíslan de suelos, agua, efluentes, numerosos alimentos y de las heces de personas y animales. Los rumiantes domésticos probablemente juegan un gran papel en el mantenimiento de *Listeria spp.* en el medio rural, mientras 2-10% de las personas son portadoras de *Listeria monocytogenes* en heces sin, aparentemente, efectos adversos en su salud. *Listeria monocytogenes* puede convertirse en endémico en las plantas de procesado de alimentos. (Jay, Loessner y Golden, 2005).

El género *Listeria* actualmente comprende seis especies: *L. monocytogenes*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. innocua*, *L. welshimeri* y *L. grayi*. Dos de estas especies, *L. monocytogenes* y *L. ivanovii* son potencialmente patógenas para el hombre y animales y la enfermedad que ocasionan se conoce con el nombre de listeriosis. *Listeria monocytogenes* se considera un patógeno oportunista con tasas de mortalidad del 20-30%. Todas las cepas de *Listeria monocytogenes* se consideran patógenas, aunque su virulencia es variable. De *Listeria monocytogenes* se reconocen 13 serovares potencialmente patógenos, de los que los más involucrados en el desarrollo de

listeriosis de origen alimentario son el 4b (37- 64%), 1/2b (10-35%), 1/2a (15-25%) y 1/2c (0-4%) (Vázquez, Domínguez, González, Kreft y Goebel, 2001).

Listeria monocytogenes es un microorganismo psicrótrofo que se desarrolla adecuadamente a temperaturas de refrigeración y sobrevive a condiciones ambientales más extremas, incluso, algunos microorganismos esporulados (Jay, Loessner y Golden, 2005). La Tabla 2, muestra los principales parámetros para el crecimiento de *Listeria monocytogenes*.

Tabla 2. Límites de supervivencia y multiplicación para *L. monocytogenes*

Parámetro	Mínimo	Máximo	Óptimo	Límite (puede sobrevivir pero no crecer)
Temperatura °C	-1.5	45	30 a 37	-18
pH	4.2	9.5	7.0	3.3
Actividad acuosa (Aw)	0.90	>0.99	0.97	< 0.90
Concentración de sal (%)	<0.5	16	No aplica	≥20
Atmosfera	Es un anaerobio facultativo que puede crecer en ausencia de oxígeno, por ejemplo, envasado al vacío o atmósfera modificada			

Fuente: (AESAN, 2011).

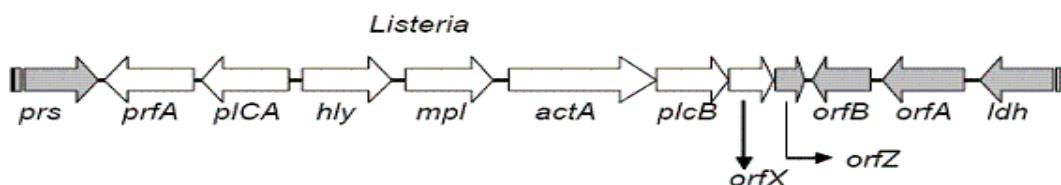
5.3.1 Mecanismos moleculares de patogenicidad

Además del reconocimiento de *Listeria monocytogenes* como un patógeno emergente de origen alimentario, los años 80 marcaron también el inicio de investigaciones acerca de su virulencia. El estudio de su actividad hemolítica, clásicamente considerada un factor de virulencia de las cepas patógenas, permitió la identificación del gen responsable de dicha actividad (*hly*) y de su papel para evitar la destrucción de *Listeria* en el interior de fagosomas y de su proliferación bacteriana intracelular (Vázquez, Domínguez, González, Kreft y Goebel, 2001) Este gen no solamente fue el primer factor de virulencia de *Listeria* identificado sino, también, el primer gen bacteriano capaz de sintetizar productos que permiten la supervivencia

de bacterias en el interior de las células eucariotas del hospedador. La identificación del gen *hly* permitió rápidamente su localización en el genoma de *Listeria monocytogenes* (Elika, 2006) y la caracterización genética de los genes próximos en un fragmento genético de 9,4 kb asociado a la virulencia de este microorganismo y con funciones esenciales para su supervivencia intracelular (Jemmi y Stephan, 2006). Dicho fragmento génico posee los genes *inlA* e *inlB* involucrados en la producción de internalinas (IntA e IntB) que facilitan la invasión de macrófagos y hepatocitos, de los genes *hly* y *plc* que codifican la listeriolisina O (LLA) y la fosfatidil inositol fosfolipasa C (PI-PLC) importantes en la lisis vacuolar y división intracelular, el gen *actA* productor de ActA y que facilita el movimiento intracitoplásmico de *Listeria monocytogenes* debido a la polimerización de la actina, de los genes *plcB* productor de una fosfolipasa C (PC- PLC) que hidrolizada por la metaloproteínasa del gen *mpl* para ser funcional facilita la protrusión, lisis celular y fagocitosis por otra célula eucariota y por el gen *prfA* cuya proteína PrfA regula el operón completo de virulencia de *Listeria monocytogenes* (McLauchlin, Mitchell, Smerdon y Jewell, 2004).

Igualmente, los genes de virulencia de *Listeria* (Figura 1), como los de otras muchas bacterias patógenas se encuentran organizados en unidades genéticas descritas como "islas de patogenicidad" (PAI's), presumiblemente adquiridas mediante una transferencia genética horizontal, quizás como parte elementos genéticos móviles y, seguramente, con un papel crucial en la evolución de la virulencia bacteriana (Jemmi y Stephan, 2006).

Figura 1. Organización transcripcional y física del grupo de genes de virulencia (LIPI-1) de *Listeria monocytogenes*.



Fuente: (Adaptado de Vázquez, Domínguez, González, Kreft y Goebel, 2001)

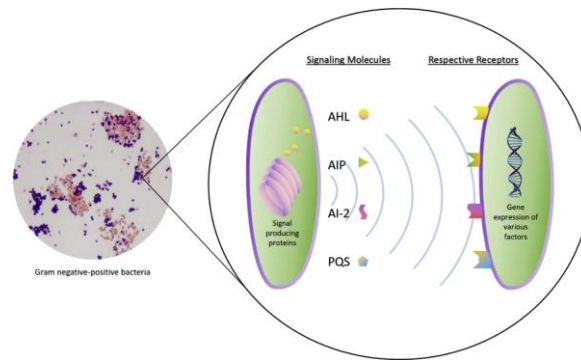
5.3.2 Quorum Sensing (Auto-Inducción)

Con el fin de resistir los cambios en su entorno, las bacterias han desarrollado mecanismos para detectar el entorno circundante, integrar estas señales y adaptar su fisiología para prosperar en condiciones fluctuantes. Entre estos mecanismos, la capacidad de las bacterias para intercambiar información entre las células se ha convertido en un campo dinámico de interés en las últimas cuatro décadas. Descrito por primera vez por en 1970 (Nealson, Platt y Hastings, 1970), este fenómeno a menudo denominado comunicación célula-célula, Quorum Sensing y/o Auto-Inducción implica la síntesis de pequeñas moléculas de señal denominadas autoinductores. Estas moléculas de señal pueden ser detectadas por la población bacteriana en las proximidades e inducir la regulación de la expresión génica como se ilustra en la figura 2.

Las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas utilizan circuitos de comunicación de detección de quórum para regular una gran variedad de actividades fisiológicas. Estos procesos incluyen simbiosis, virulencia, competencia, conjugación, producción de antibióticos, motilidad, esporulación y formación de biopelículas. Los péptidos inductores automáticos (AIP) son las moléculas de señalización en la comunicación de bacterias Grampositivas, contrariamente a las lactonas homoserinas para bacterias Gram-negativas (Malanovic y Lohner, 2016). La síntesis de señales peptídicas autoinductoras se producen en el ribosoma celular y además sufre algunas modificaciones para alcanzar una forma madurada. Para la detección de estas señales las células utilizan una transducción de señal reguladora de dos componentes compuesta por un regulador de respuesta intracelular y un receptor de histidina quinasa receptor localizado en la membrana (Chong, Kimyon, Rico, Kjelleberg y Manefield, 2012). El sistema de detección de quórum sensing en las Gram-positivas se descubrió inicialmente en *Lactococcuslactis* y *Streptococcus pneumoniae* (Ansaldi, Marolt, Stebe, Mandic-Mulec y Dubnau, 2002). Donde se sintetiza un péptido precursor o péptido autoinductor en el ribosoma celular

después del cual se modifica y procesa mediante un complejo transportador de casete de unión a ATP.

Figura 2. Representación de la comunicación de bacterias a bacterias a través de la transferencia y recepción de los cuatro tipos de moléculas de señalización.



Fuente: (Turan N., 2017)

El péptido modificado es luego transportado fuera de la célula. La transducción de señales reguladoras de dos componentes a una determinada concentración de AIP recibirá la señal y transmitirá el mensaje sensorial a la célula a través de la fosforilación. Esto, por lo tanto, da como resultado la activación y expresión de genes relacionados (Chong, Kimyon, Rico, Kjelleberg y Manefield, 2012). El propósito principal del AIP es asegurar la comunicación entre las bacterias, pero también se ha descubierto que algunos AIP las moléculas pueden estar involucradas en otras funciones microbianas complejas que aseguran las comunicaciones entre bacterias (Tajbakhsh, Karimi, Fallah y Akhavan, 2017).

5.3.3 Listeriosis y manifestaciones clínicas

La listeriosis es una enfermedad infrecuente pero seria, de elevada tasa de mortalidad (20-30%) comparada a la de otras toxiinfecciones alimentarias (TIA) y que afecta a sectores poblacionales de elevada susceptibilidad. Ello convierte a *Listeria monocytogenes* en un microorganismo oportunista que afecta a personas inmunodeprimidas (cáncer, diabetes, alcohólicos, SIDA, trasplantados, enfermos

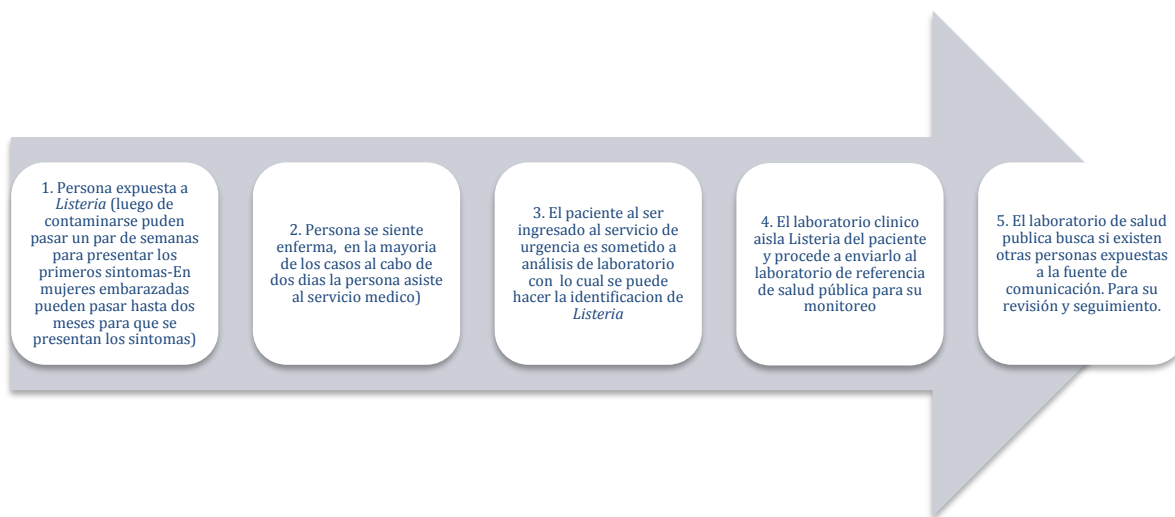
crónicos de diversas afecciones), mujeres embarazadas, recién nacidos y personas mayores. La severidad de la enfermedad y su asociación con alimentos procesados, especialmente durante sus brotes, hacen que el impacto social y económico de la listeriosis sea de los más elevados de las ETAS. (McLauchlin J y col., 2004).

Igualmente, la enfermedad adopta diversas manifestaciones que pueden agruparse en dos categorías: (i), "infecciones severas", "listeriosis sistémica" o "listeriosis invasiva" y (ii), "gastroenteritis febril" o "listeriosis no invasiva". La patogenia de la enfermedad se inicia con la llegada de *Listeria monocytogenes* al tracto gastrointestinal y su paso a través del mismo, lo que depende del número de microorganismos ingeridos, susceptibilidad del hospedador y virulencia del organismo. El periodo de incubación suele ser largo, de 2-3 semanas y, a veces, hasta de 3 meses. Posteriormente y dependiendo del estado inmunológico del hospedador, *Listeria monocytogenes* invade los fagocitos y se transfiere a diversos órganos, sobre todo, útero, sangre y sistema nervioso central; originando infecciones perinatales (43%), meningitis (24%), septicemias (29%) y otras formas atípicas de la enfermedad (4%), de elevada tasa de mortalidad.

La listeriosis es una enfermedad de origen alimentario de implicaciones graves, pero baja frecuencia que causa la muerte hasta en un 30% de los casos; causada por la *Listeria monocytogenes* que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza llegando a sobrevivir por largos periodos de tiempo. Las mujeres gestantes, neonatos, adultos mayores e individuos inmunocomprometidos son los grupos que presentan mayor susceptibilidad (Instituto Nacional De Salud, 2015). La principal fuente de contagio para el hombre son los alimentos listos para el consumo, especialmente los que se conservan refrigerados por periodos prolongados. En la industria alimentaria la *Listeria monocytogenes* sobrevive a los procesos de limpieza e higienización por su capacidad de formar biofilm sobre superficies de trabajo y equipos, contaminando los alimentos que allí se procesan (Somers y Lee Wong, 2004). Se ha establecido una serie de indicadores para vincular la infección por *Listeria* con un brote a través de

una línea de tiempo (Figura 3)

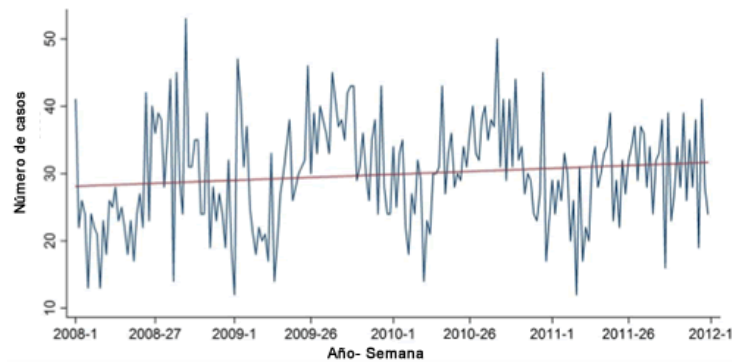
Figura 3. Línea de tiempo para vincular un caso de infección por *Listeria* con un brote



Fuente: Figura Adaptada de Timeline for Linking a Case of *Listeria* Infection to an Outbreak | *Listeria* | CDC", 2016).

En Estados Unidos ha habido una reducción en el número de casos en los últimos años, en cambio en Europa la presentación de la enfermedad aun es variable y solo está sistematizada a 2012 como se observa en la figura 4. Esta disminución se atribuye en parte a la implementación de sistemas como el HACCP. En 2014 la bacteria *Listeria monocytogenes* infectó en todo el mundo a unas 23.150 personas, de las cuales murieron 5.463, según lo referenciado en el The global burden of listeriosis: a systematic review and metaanalysis (2014). En países desarrollados, *Listeria* es el tercer patógeno transmitido por alimentos que más costos genera a los sistemas de salud. En estos países, los casos se han relacionado sobre todo con carnes listas para comer, perros calientes, pastas de carne, productos lácteos sin pasteurizar, pescados ahumados y crudos. Adicionalmente según lo que referencia el estudio este microorganismo afecta sobre todo a regiones de América Latina, Europa, Polonia y Turquía.

Figura 4. Casos de listeriosis en la Unión Europea 2008- 2012



Fuente: EFSA. 2012.

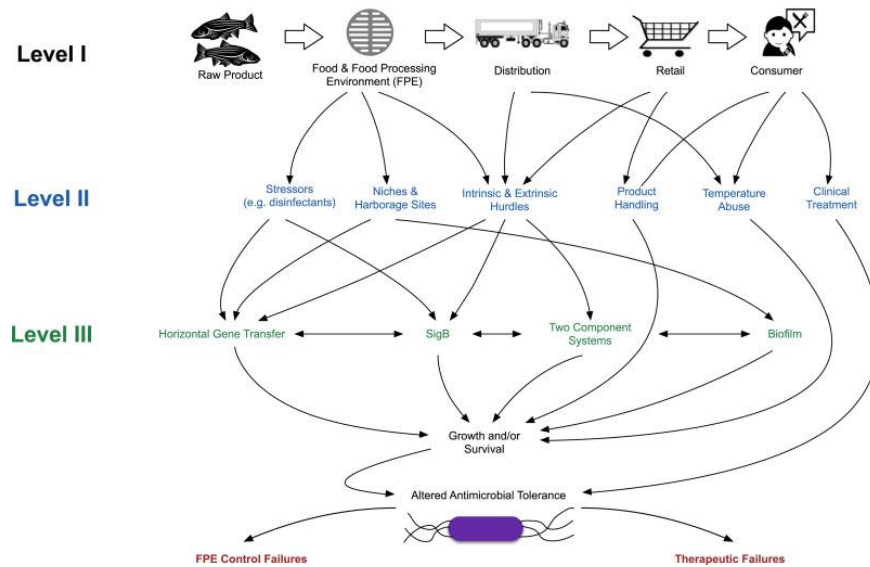
No obstante, la epidemiología de la enfermedad parece que ha variado durante los últimos años con un descenso de las infecciones perinatales (11-31%) y un incremento de las formas septicémicas (66%) en pacientes con otras enfermedades. Las secuelas producidas por la listeriosis (11-33% de los casos) son también preocupantes, sobre todo en niños y en afectados por afecciones del sistema nervioso central (SNC). Formas no invasivas de la listeriosis se han observado también en brotes donde los afectados desarrollaron gastroenteritis en forma de diarrea, fiebre, dolor de cabeza y mialgias tras un periodo corto de incubación. Dichos brotes se originan, generalmente, tras la ingestión de dosis elevadas de este microorganismo por individuos sanos, aunque la incidencia y los factores que inciden en el desarrollo de esta forma de la enfermedad no se conocen bien. El tratamiento antibiótico clásico para los casos de listeriosis es penicilina ó ampicilina más gentamicina y como tratamiento alternativo se utiliza la trimetropina más sulfametazol (Elika, 2006).

5.3.4 Implicaciones de *Listeria monocytogenes* en retail

En el sector del retail (venta al detalle, especializada en la comercialización de productos o servicios, como, por ejemplo: los supermercados) existen numerosas fuentes de contaminación, como: productos alimenticios, medio ambiente, (La figura 5 detalla los ambientes en donde puede existir prevalencia), equipos, empleados, clientes o proveedores. La contaminación por *Listeria monocytogenes* puede ocurrir en cualquier etapa de la cadena alimenticia, desde la granja hasta la mesa y el impacto de la contaminación en la salud pública dependerá de la etapa de la cadena de producción de alimentos y del tipo de alimento donde se presente la contaminación. Los productos crudos como las carnes, las aves de corral, los mariscos y algunas frutas y verduras pueden portar *Listeria monocytogenes*.

Aunque los métodos de procesamiento como el calor o los tratamientos químicos pueden destruirla. Los alimentos procesados pueden presentar mayor probabilidad de contaminación debido a la posibilidad de procesos térmicos inadecuados o contaminaciones cruzadas posterior al procesamiento. Si los alimentos contaminados ingresan en un establecimiento minorista, la posibilidad de que otros alimentos se contaminen de manera importante aumenta significativamente (Lakicevic, Nastasijevic y Raseta, 2015).

Figura 5. Resumen de los ambientes que ocurren a lo largo del continuo de la granja al tenedor que pueden influir en el desarrollo, mantenimiento y selección de la resistencia antimicrobiana (AMR) en *L. monocytogenes*.



Nota: Nivel 1 Cadena alimentaria, Nivel 2 Factores únicos de cada nicho, Nivel 3 Respuesta bacteriana a condiciones difíciles. Figura Adaptada de Allen, K., Walecka-Zacharska, E., Chen, J., Katarzyna, K., Devlieghere, F., y Van Meervenne, E. et al. (2016). *Listeria monocytogenes* - An examination of food chain factors potentially contributing to antimicrobial resistance. *Food Microbiology*, 54, 178-189.

Dada la importancia de esta situación las agencias de vigilancia en temas de salud y control de enfermedades de los Estados Unidos como Food and Drug Administration (FDA), el Food Safety and Inspection Service (FSIS) del United States Department of Agriculture (USDA) y los CDC, han caracterizado bajo una de las categorías a los alimentos listos para el consumo que tienen un alto riesgo de asociarse con listeriosis debido a que facilitan el crecimiento del microorganismo causante. El FSIS agrupa en cárnicos y aves, los alimentos como salchichas, ensaladas, patés, perros calientes, salamis, peperonis, jamones cocidos, jamones curados, prosciutto, rollos de carne, carnes en tajadas, carnes para untar, carnes cortadas en porciones, carnes molidas, hamburguesas, presas de pollo, nuggets de pollo, tajadas de jamón de carne de pollo y de pavo, pizzas, rollos de huevo, sándwiches, ensaladas y otros ("Testing Program for RTE Meat and Poultry", 2017).

5.3.5 Problemática de *Listeria monocytogenes* en Colombia.

En Colombia, la prevalencia de *Listeria monocytogenes* en carnes y derivados cárnicos se reporta en diferentes estudios adelantados y en los cuales se ha identificado como fuente primaria de *Listeria monocytogenes* la contaminación cruzada (Carrascal, Mejia, Gonzales y Poutou, 2014) . Al investigar las causas de los brotes, éstas se han asociado a contaminaciones en las plantas de derivados cárnicos, ya que la prevalencia de *Listeria monocytogenes* durante el beneficio es baja (3,7%) y su prevalencia en canales, cortes de carne y derivados de cerdo fue de aproximadamente 13,8% (Gamboa, Buitrago, Pérez, Poutou y Carrascal, 2012). En plantas de procesamiento de carnes de cerdo fue de 11,46% (Carrascal, Mejia, Gonzales y Poutou, 2014). La tabla 3, muestra referencias de prevalencias de *Listeria monocytogenes* desde 1997 al 2013.

Tabla 3. Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en carnes y derivados cárnicos en Colombia.

Producto	Lugar	Muestras analizadas (n)	Número muestras positivas	Porcentaje %	Referencia
Cárnicos cocidos	Bogotá	119	54	45,4	INVIMA, 1997
Canales de bovinos Holstein	Bogotá	133	3	2,3	Gallego, Torres, Soto, Duque y Benítez, 2005
Jamón	Bogotá	398	67	16,8	Vera, Ferro y Triana, 2006
Salchicha		239	21	8,8	
Mortadela		113	15	13,3	
Salchichon		192	3	1,6	
Pollo congelado	Bogotá	91	40 <i>Listeria spp</i>	43,9	Pérez, Reyes y Carrascal, 2008
Productos cárnicos	Santander	118	0	0	Blanco, Casadiego y Pacheco, 2011
Salchicha		169	13	7,7	Gamboa, Buitrago, Perez, Poutou y Carrascal, 2012
Jamón		163	10	6,1	
Cárnicos ahumados	Bogotá	2	1	50	Muñoz, Vargas, Otero y Diaz, 2011
Cárnicos cocidos		113	8	7,1	
Cárnicos madurados		5	0	0	
Jamón	Tolima	17	<i>Listeria spp</i>	11,8	Moreno, 2013
Salchicha		26	<i>Listeria spp</i>	3,8	
Mortadela		1	0	0	

Fuente: (Instituto Nacional de Salud, 2015).

El Grupo Técnico de Vigilancia Epidemiológica en Alimentos y Bebidas del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos - INVIMA, realizó un Estudio Microbiológico (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella spp* y *Staphylococcus aureus*) y Fisicoquímico (concentración de Nitrito de Potasio y Sodio), en Derivados Cárnicos listos para su consumo (LPC), publicado en el 2016 y realizado durante el 2015 por el INVIMA y las Secretarías de Salud Departamentales realizaron muestreos a través de planes de monitoreo para empresas que fabricantes de cárnicos procesados (derivados cárnicos) listos para su consumo, de los cuales se obtuvieron 36 establecimientos con resultado positivo de 97 establecimientos evaluados para *Listeria monocytogenes*, presentando incumplimiento frente los parámetros establecidos por el laboratorio nacional de referencia del Invima así como a la Normas Sanitarias Vigentes (Tabla 7). Respecto a la Tabla 8, esta hace referencia a los resultados de análisis de laboratorio realizado a los derivados cárnicos, a través de vigilancia por parte de las Secretarías de Salud Departamentales durante el año 2015, evidenciando que 8 muestras dieron positivas para *Listeria monocytogenes* (Invima, 2016). De acuerdo a la Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos, en el Documento de riesgo de *Listeria monocytogenes* salchicha, jamón, mortadela y salchichón en Colombia, solo hace mención a las concentraciones de uso permitidas de diferentes aditivos clasificados como conservantes, entre los cuales se encuentran: antioxidantes (ácido cítrico y citrato de sodio), conservantes naturales y depresores de a_w (ácido láctico, lactato de sodio o de potasio), aceleradores de curado (ácido ascórbico, ascorbato de sodio y eritorbato de sodio), depresor de pH y acidificación (glucona delta y lactona) y por último, sustancias curantes - nitratos y nitritos (nitrato potásico E 252, nitrato sódico E251, nitrito pótasico E249 y nitrito sódico E250) (Instituto Nacional De Salud, 2015).

Tabla 4. Resultados de *Listeria monocytogenes* en derivados cárnicos por monitoreo de Invima

Resultados de Análisis de Reducción de Patógenos <i>Listeria monocytogenes</i> en Derivados Cárnicos. Año 2015			
GTT	DEPARTAMENTO	PLANTA	<i>Listeria monocytogenes</i>
Centro Oriente 1	Santander	Marksa S.A.S	Positivo/25g
		Campollo Planta Carnes Frías	Positivo/25g
		Salsamentaría Colombo-alemana Ortiz y compañía S.A.S	Positivo/25g
Centro Oriente 2	Cundinamarca	Salsamentaría Martmore LTDA	Positivo/25g
		Carnes Los Sauces S.A.	Positivo/25g
		Industrias Alimenticias Aretama S.A.	Positivo/25g
		Salsamentaría Sabore y compañía Ltda.	Positivo/25g
		Alimentos Delcop S.A.S	Positivo/25g
		Carnes Frías Montecarlo	Positivo/25g
CC1	Atlántico	Frigorífico La Parisienne	Positivo/25g
Eje Cafetero	Risaralda	ABC CO S.A.	Positivo/25g
Grupo de Apoyo a Nariño	Nariño	Porkilandia Procesos	Positivo/25g
Occidente 1	Antioquia	Frigocarnes S.A.S	Positivo/25g
		Carnes Casa Blanca S.A	Positivo/25g
		Productos Alimenticios Sevilla S.A	Positivo/25g
		Cárnicos El Condado Súper Deli LTDA	Positivo/25g
		Colpagro S.A.	Positivo/25g
		Cárnicos Santa Clara S.A.S	Positivo/25g
		Comestibles Maxiricos S.A.S	Positivo/25g
Occidente 2	Valle del Cauca	Industrias de Alimentos Carbel S.A.	Positivo/25g
			Positivo/25g

		Carnes y derivados de Occidente S.A.	
--	--	--------------------------------------	--

Fuente: (Invima, 2016).

Tabla 5. Resultados patógenos en Derivados Cárnicos por Vigilancia de Secretarías de Salud Departamentales y Grupo de Trabajo Territorial

Resultados de laboratorio para derivados cárnicos (Vigilancia de Secretarías de Salud Departamentales). Año 2015			
DEPARTAMENTO	RAZÓN SOCIAL	PRODUCTO	CAUSAL DE RECHAZO
Valle del Cauca	Pollos el bucanero S.A.	Carne de pollo molida sazónada	<i>Listeria monocytogenes</i>
Antioquia	Cárnicos y Alimentos S.A.S. Derivados Cárnicos	Jamón	<i>Listeria monocytogenes</i>
Antioquia	Comestibles DAN	Jamón	<i>Listeria monocytogenes</i>
Valle del Cauca	CFC Procesadora de Alimentos SAS Establecimiento de Comercio Carnes Frías Calimas	Jamón	<i>Listeria monocytogenes</i>
Bogotá D.C.	Maxialimentos LTDA	Salchicha	<i>Listeria monocytogenes</i>
Bogotá D.C.	Salsamentaría Baviera Salsus Baviera	Jamón	<i>Listeria monocytogenes</i>
Bogotá D.C.	El Cerdito de la Corte LTDA	Salchichón	<i>Listeria monocytogenes</i>
Bogotá D.C.	Salsamentaría Boyacense SAS	Jamón	<i>Listeria monocytogenes</i>

Fuente: (Invima, 2016).

Con el plan de muestreo realizado, la medida más común, cuando se presenta la presencia de *Listeria monocytogenes* en producto terminado, es impedir que el lote contaminado sea liberado para el consumo humano, retirar el producto del mercado, determinar y corregir la causa original que provocara dicho incumplimiento por parte de la industria cárnica que presenta la novedad (Invima, 2016).

La prevalencia de *Listeria monocytogenes* en derivados cárnicos LPC (jamón, salchicha, mortadela y salchichón) de acuerdo con los diferentes estudios publicados

y los resultados obtenidos de las actividades de IVC en el territorio nacional varía entre 1,7% a 48,7%. En el caso particular de jamón, la prevalencia de *Listeria monocytogenes* oscila entre un rango de 6,13% hasta 16,8%, en salchicha desde 2,2% a 16,6%, en mortadela de 4,1% a 13,3% y en salchichón de 1,4% a 1,6%. Los serotipos más frecuentes en Colombia corresponden al 4b y 1/2b (Instituto Nacional De Salud, 2015).

6. Marco General para la bioconservación en productos cárnicos

La bioconservación es un método que busca disminuir la carga microbiana no deseada de un producto, por medio del uso de compuestos antimicrobianos o microorganismos con capacidad antimicrobiana y de esta manera permite prolongar la vida útil del producto. Entre los principales microorganismos usados en la bioconservación, se encuentran las BAL, las cuales producen una serie de metabolitos antagónicos o que inhiben el crecimiento de otras bacterias, entre ellas patógenos como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* y *Escherichia coli*, cuya transmisión se da principalmente a través de alimentos contaminados (Rodríguez, 2013). El efecto antagónico entre microorganismos se conoce desde el siglo XIX en los inicios de la microbiología, y se ha vinculado a la actividad metabólica de las bacterias ácido lácticas (BAL) (Stiles, 1996). Este antagonismo se refiere a la inhibición a través de la competencia por los nutrientes y/o a la producción de uno o más metabolitos con actividad antimicrobiana (Rodríguez, 2013), por la producción de ácidos orgánicos y otros metabolitos inhibidores como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el ácido láctico, ácido cítrico, bacteriocinas, entre otros (Fernández et al., 2014). La bioconservación se basa en la extensión de la vida útil de los alimentos por medio de los compuestos antimicrobianos producidos por determinados microorganismos (fundamentalmente Bacterias Ácido Lácticas), bien sea por su adición directa o por la aplicación de sus metabolitos. Se trata entonces de un método de conservación natural o con componentes naturales, con un enorme potencial de aplicación en diferentes productos alimentarios. A través de la bioconservación, el producto podría ser etiquetado con las expresiones “libre de” o “sin”, en los casos en los que se pueda sustituir por completo los conservantes químicos habitualmente usados. De acuerdo a los metabolitos producidos por las BAL, la bioconservación se divide en dos tipos: la bioconservación con bacteriocinas y la bioconservación con cepas no productoras de bacteriocinas.

La bioconservación en alimentos puede ser aplicada de cuatro maneras (Stiles, 1996):

- Añadiendo las cepas en el producto y favoreciendo su rápido crecimiento, de modo que eviten el desarrollo de microorganismos nativos potencialmente alterantes o patógenos.
- Agregando las sustancias antimicrobianas purificadas, producidas previamente por *BAL* en un medio de cultivo.
- Adicionando el concentrado de células de un cultivo protector.
- A través de la adición de *BAL* mesófilas, para que sirvan como un “sistema de seguridad” cuando se produce abuso de temperatura.

Las bacterias ácido lácticas se caracterizan por producir una variedad de compuestos antimicrobianos, dependiendo de las condiciones del medio de crecimiento y de la cepa. Entre los compuestos que pueden producir se encuentran ácidos orgánicos (tales como láctico, acético, fórmico, propiónico y butírico), etanol, ácidos grasos, acetoina, peróxido de hidrógeno, diacetilo, propionato, fenil lactato, hidroxifenil-lactato, dipéptidos cíclicos, bacteriocinas, dióxido de carbono, entre otros (Calo et al., 2007; Reis, Paula, Casarotti y Penna, 2012; Settanni y Corsetti, 2008).

6.1 Cultivos protectores

El crecimiento de cultivos protectores en la carne interfiere con el desarrollo de microorganismos alterantes y patógenos a través de varios mecanismos: la producción de compuestos antimicrobianos (Tabla 6) y la competencia por oxígeno, nutrientes o sitios de adhesión (Hugas, 1998).

Aunque la ingesta de *Bacterias Acido Lácticas* (*BAL*) no representa ningún peligro para la salud, para utilizarlas como cultivos protectores o starter, debe tomarse en cuenta que no todas ellas poseen el status legal de GRAS (“Generally Recognised as Safe”) según la FDA (Food and Drug Administration) de EEUU, o de QPS

(“Qualified Presumption of Safety”) por la EFSA (Talon y Leroy, 2011). Esto se debe a que algunas no cumplen con todos los criterios para su inclusión (taxonomía, familiaridad, patogenicidad y destino de uso). Por otro lado, una *BAL* no podría considerarse segura para uso alimentario si se ha visto implicada en procesos infecciosos (como el *Lactobacillus rhamnosus*, en raras ocasiones), aun cuando no se haya comprobado que su ingesta produce alguna enfermedad (European Food Safety Authority (EFSA), 2007).

También se evaluó el efecto de cultivos iniciadores o starter en la industria cárnica (Blanco, Sotelo y Llorente, 2016), mostraron como el cultivo *Lactobacillus skey* y *Staphilocooccus carnosus* pueden reducir in vitro hasta 2.4 UFC de *Listeria monocytogenes*.

Tabla 6. Compuestos antimicrobianos de origen biológico

Compuesto	Microorganismos Productor	Espectro Antimicrobiano	Referencia
Ácido Láctico	Todas las Bacterias Acido Lácticas (BAL)	Levaduras, bacterias Gram positivas y Gram negativas	Beristain et al., 2012
Ácido Acético	Bacterias Acido Lácticas Heterofermentaticas	Levaduras, bacterias Gram positivas y Gram negativas	Beristain et al., 2012
Diacetilo, Acetaldehído Acetoina	Varios géneros de BAL, como <i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Lactobacillus</i> y <i>Pediococcus</i>	Levaduras, bacterias Gram positivas y Gram negativas	Rodríguez, 2011
Peróxido de hidrogeno	Todas las Bacterias Acido Lácticas (BAL)	Levaduras, bacterias Gram positivas y Gram negativas	Beristain et al., 2012
Dióxido de carbono	Bacterias Acido Lácticas Heterofermentaticas	La mayoría de los grupos taxonómicos de microorganismos	Rodríguez, 2011
Reuterina	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Hongos, protozoos, bacterias Gram positivas y Gram negativas	Beristain et al., 2012
Reuteridina	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Bacterias Gram positivas	

Péptidos bicíclicos	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus pentosus</i>	Hongos	Beristain et al., 2012
Ácido 3-fenil-láctico Ácido 4-hidroxi- fenil-láctico	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus alimentarius</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> , <i>Lactobacillus hilgardii</i> , <i>Leuconostoc citreum</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Hongos	Rodríguez, 2011
Ácidosgrasos 3- hidroxi	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Hongos	Beristain et al., 2012
Ácido benzoico Metil hidantoina Mevanololactona	<i>Lactobacillus plantarum</i>	Hongos Bacterias Gram negativas	Beristain et al., 2012

Fuente: (Velasco, 2017).

Carnobacterium es un género perteneciente a las BAL, Gram positivo catalasa positiva, que se agrupa dentro de lactobacilos con características comunes, tales como su capacidad para crecer en presencia de acetato y ser acidúricas. Así mismo este tipo de género es capaz de producir bacteriocinas. Al género pertenecen cuatro especies: *C. divergens* (previamente *Lactobacillus divergens*), *C. piscicola* (previamente *Lactobacillus piscicola*), *C. gallinarum*, *C. mobile* (Nilsson et al., 2004), *C. piscicola* V1, estas son capaces de controlar el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en salmón ahumado en frío y almacenado al vacío a 4°C y 8°C.

En Colombia, se realizó un estudio en el 2012 en el cual se realizó la adición de *Carnobacterium maltaromaticum* CB1 en chorizo y morcilla empacados a vacío, buscando determinar si este cultivo podía controlar el crecimiento de una cepa nativa de *Listeria monocytogenes*, se seleccionaron tres lotes producidos industrialmente, los cuales fueron inoculados a un nivel de 10² UFC/g junto con el bioconservante *C. maltaromaticum* CB1 a un nivel de 10³ UFC/g y se mantuvo un control de cada uno de los lotes los cuales no fueron inoculados (muestras control); estos fueron almacenados a dos temperaturas diferentes de 4°C (refrigeración) y 8°C

(abuso de temperatura) durante 35 días y se realizaron recuentos del crecimiento de *Listeria monocytogenes* cada 7 días en agar Oxford. Se obtuvo una reducción significativa ($P < 0.05$) en los recuentos de *Listeria monocytogenes* tanto en la morcilla como en el chorizo tratados con el bioconservante *C. maltaromaticum* CB1 y almacenados a 4°C y 8°C, en comparación con los productos denominados control. Logrando demostrar que *C. maltaromaticum* CB1 es efectiva en el control del crecimiento de la cepa nativa de *Listeria monocytogenes* en chorizo y morcilla (González H., Yien, Castrillón V. y Ortega P., 2013).

Adicionalmente en algunos casos, la utilización de *BAL* en alimentos representa una mejora en sus propiedades nutricionales o funcionales, como es el caso de los productos probióticos. En cualquier caso, es deseable que un cultivo protector cumpla con algunos de los siguientes requisitos (Holzapfel, Geisen, y Schillinger, 1995):

- No debe ser patógeno.
- No producir sustancias que pudieran representar un problema para la salud, como aminas biógenas y toxinas.
- Poseer capacidad de adaptación al producto, de manera que pueda proveer una actividad protectora consistente, una actividad metabólica predecible y una actividad enzimática específica para un alimento determinado (ejemplo: nitrato reductasa o catalasa en la carne).
- Ser competitivos frente a microorganismos habituales del alimento.
- No ser productores de sustancias sensorialmente indeseables.
- Funcionar como indicador en condiciones de abuso.

6.2 Bacteriocinas

Las bacteriocinas son péptidos o proteínas de bajo peso molecular (normalmente menor a 10.000 Da) (Schillinger, Geisen, y Holzapfel, 1996) conformadas por 30 - 60 aminoácidos, sintetizadas en los ribosomas de las bacterias productoras y en su

mayoría son moléculas termoestables (Settanni y Corsetti, 2008). Estos compuestos se clasifican en tres grupos, Clase I (lantibióticos) entre las que se incluye la nisina, Clase II (no lantibióticos), como la pediocina PA-1 y Clase III (Chen y Hoover, 2003). En la tabla 7, se muestran las bacteriocinas representativas producidas por BAL. La Nisina, presnet a una actividad antimicrobiana dirigida principalmente contra bacterias Gram Positivas, inhibiendo particularmente el crecimiento de bacterias esporuladas (*Bacillus* y *Clostridium*) y no esporuladas (*Staphylococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Listeria*, *Pediococcus* y *Micrococcus*) (Pisoschi et al., 2018).

Tabla 7. Bacteriocinas representativas producidas por BAL

Bacteriocina	Productor	Espectro de Inhibición	Tamaño (número de aminoácidos)
Clase I: Lantibióticos			
Nisina (A y Z)	<i>Lactococcus lactis</i>	Amplio	34
Lactacina 481	<i>Lactococcus lactis</i>	Amplio	27
Lactocina S	<i>Lactobacillus sake</i>	Amplio	37
Carnocina U149	<i>Carnobacterium piscícola</i>	Amplio	35 - 37
Clase II: No lantibióticos. Termoestables			
Lactococcina A	<i>Lactococcus lactis</i>	Estrecho	54
Lactococcina B	<i>Lactococcus lactis</i>	Estrecho	47
Lactacin F	<i>Lactococcus johsonii</i>	Estrecho	57 - 48
Plantaricina	<i>Lactococcus planctarum</i>	Amplio	34
Sakacina P	<i>Lactobacillus sake</i>	Amplio	41
Pediocina AcH	<i>Pediococcus acidilactici</i>	Amplio	44
Divergicina M35	<i>Carnobacterium divergens</i>	Amplio	43
Enterocina P	<i>Enterococcus faecium</i>	Estrecho	44
Clase III: Mayor tamaño , termolábiles			
Helveticina J	<i>Lactococcus helveticus</i>	Estrecho	333

Clase IV: Moléculas Complejas			
Cicularina A	<i>Geobacillus kaustophilus</i>	-	76

Fuente: (Agudelo, Torres, Alvarez y Velez, 2015)

Las bacteriocinas poseen una actividad antimicrobiana variable, normalmente sobre especies estrechamente relacionadas, o inclusive sobre cepas de la misma especie productora. Pueden actuar sobre microorganismos Gram positivos, debido a que pueden desestabilizar los polímeros aniónicos de la pared celular (ácidos teicoico y lipoteicoico) (Zacharof y Lovitt, 2012). Por tanto, se destacan por su actividad contra patógenos y alterantes como *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium botulinum* (Schillinger et al., 1996). Además, de su efecto sobre la pared celular, las bacteriocinas afectan la síntesis de ADN y proteínas (Calo et al., 2007).

En el caso de las bacterias Gram negativas, al estar protegidas por una membrana externa esta previene que las bacteriocinas (y cualquier otra sustancia con peso molecular por encima de los 600 Da) pueda alcanzar la membrana citoplasmática. Sin embargo, las bacterias Gram negativas pueden ser sensibilizadas a las bacteriocinas cuando se combina su uso con quelantes o tratamientos de conservación (Lücke, 2000). De otro lado, ácidos orgánicos

Por ello, su actividad antimicrobiana se asocia principalmente a los efectos que producen sobre las bacterias Gram positivas. No obstante, algunas bacteriocinas pueden afectar tanto a bacterias Gram positivas como Gram negativas, como las encontradas por Todorov y Dicks (2005), producidas por cepas de *L. plantarum* aisladas de melazas (Jamuna, Babusha, y Jeevaratnam (2005)), observaron que las bacteriocinas producidas por *L. acidophilus* y *L. casei* poseían un amplio espectro antimicrobiano que incluía a bacterias Gram negativas, como *E. coli* y *Pseudomonas spp.*

Las bacteriocinas de mayor interés son aquellas producidas por las BAL, dado que estos microorganismos son considerados como seguros. Por tanto, cualquier

antimicrobiano que produzcan se podría calificar como un aditivo natural (Adams y Nicolaides, 1997). Los alimentos que contienen BAL (como los productos fermentados) podrían contener bacteriocinas, por lo cual es común ingerirlas a través de estos (Settanni y Corsetti, 2008). En cualquier caso, la naturaleza proteica de las bacteriocinas probablemente hace que sean inactivadas por proteasas en el tracto gastrointestinal (Hugas, 1998), por lo cual no serían asimiladas por el organismo.

Muchos géneros de BAL se conocen por incluir especies capaces de producir bacteriocinas y entre ellos se cuentan: *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Enterococcus* y *Lactococcus*. Aparte de las BAL, otras bacterias, incluidas las Gram negativas (como *E.coli*), pueden producir bacteriocinas, pero considerando que su espectro de acción es muy pequeño (actúan sobre especies muy estrechamente relacionadas), tienen pocas posibilidades de explotarse como bioconservantes (Lücke, 2000). Por otro lado, ácidos orgánicos excretados por el cultivo protector podrían potenciar el efecto antimicrobiano de las bacteriocinas, ya que al aumentar la carga neta de estas (bajando el pH) se favorecería la translocación de las moléculas a través de la pared celular. Además, la solubilidad de las bacteriocinas podría aumentarse, facilitando así su difusión (Gálvez, Abriouel, López, y Omar, 2007).

En la aplicación de bacteriocinas de BAL en productos cárnicos se presenta una serie de desventajas. En primer lugar, el efecto antimicrobiano puede disminuir debido a que pueden ser inactivadas en el propio alimento. Por otra parte, las bacterias Gram negativas de la carne pueden resistir la acción de las bacteriocinas (como se comentó anteriormente), incluidas algunas patógenas como *Salmonella*, *Campilobacter*, *E. coli* enterohemorrágica o *Yersinia enterocolítica*. Sin embargo, pueden ofrecer protección frente a *Listeria monocytogenes*, al ser Gram positiva (Winkowski, Crandall y Montville, 1993). La bacteriocina más empleada para bioconservar productos cárnicos y protegerlos de *Listeria monocytogenes* es la nisina en concentraciones de

400 UI/gr a 800 UI/gr, o bien combinada con 2% de NaCl (Pawar, Malik, Bhilegaonkar y Barbuddhe, 2000). Sin embargo, al bajar las temperaturas de refrigeración, la efectividad de la nisina es baja. También se ha evaluado la actividad antilisteria de la nisina A y la pediocina AcH en carne de cerdo cruda, considerando a la nisina A más efectiva (Murray y Richard, 1997). De acuerdo con la clasificación de bacteriocina, las pediocinas son biomoléculas que pueden ser sintetizadas por algunas BAL y presentan un amplio espectro de actividad antimicrobiana contra bacterias Gram Positivas, que destacan sus eficaces efectos bacterianos contra bacterias patógenas, como *Listeria monocytogenes* (Porto, Kuniyoshi, Azevedo, Vitolo y Oliveira, 2017).

En carne de cerdo picada y paté de hígado de cerdo, jamón y pechuga de pollo, la adición de enterocinas A y B muestran elevados efectos anti-listeria (Aymerich et al., 2000). En jamón horneado se aplica una mezcla modelo de varias bacteriocinas: enterocinas A y B, sakacina K, pediocina AcH o nisina, y se demuestra que actúan sinérgicamente en combinación con alta presión hidrostática para reducir o inhibir microorganismos (Garriga, Aymerich, Costa, Monfort y Hugas, 2002). La leucocina A se ha empleado para evitar el deterioro de carne empacada al vacío causado por *L. sake*. La leucocina 410 responde satisfactoriamente ante la inhibición de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos en rebanadas. En la carne de cerdo empacada al vacío, se aplica una combinación de nisina y lisozima muy efectiva para inhibir *B. thermosphacta* y bacterias ácido lácticas (Jacobsen, Budde y Koch, 2003). La tabla 3 muestra algunas ventajas de la aplicación de bacteriocinas en productos cárnicos.

Tabla 8. Ventajas de la aplicación de bacteriocinas en productos cárnicos.

Tipo de alimento	Ventajas
Carne cruda	Descontaminación de superficies
	Inhibición de bacterias alterantes
	Inhibición de <i>Listeria monocytogenes</i>
Productos cárnicos cocidos	Inactivación de patógenos en productos envasados a vacío
	Reducción de la formación de limo
	Barrera adicional frente a patógenos o alterantes en tratamientos combinados (luz pulsada, altas presiones)
Productos cárnicos fermentados	Reducción de los niveles de <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>S. Aureus</i>
	Barrera adicional en embutidos ligeramente fermentados y con un pH menos ácido

Fuente: (Gálvez, Abriouel, López y Omar, 2007).

La aplicación de bacteriocinas en carne y productos cárnicos, así como en otros tipos de alimentos tiene varias limitaciones que pueden obstaculizar su aplicación. Las bacteriocinas no tienen un amplio rango de hospederos. Solo son activos contra cepas estrechamente relacionadas y generalmente son ineficaces contra el deterioro y las bacterias Gram Negativas patógenas. Por lo tanto, desde el punto de vista de la seguridad, no es posible confiar únicamente en el efecto antimicrobiano de las bacteriocinas. Para superar esto, es necesaria una tecnología de combinación de obstáculos. Varios estudios han reportado efectos aditivos o sinérgicos entre bacteriocinas, varios antimicrobianos y tecnologías emergentes de procesamiento como alta presión hidrostática (HHP), pulsos eléctricos, campos magnéticos, irradiación, etc. Estas tecnologías de preservación mejoran la actividad antibacteriana de las bacteriocinas y las bacterias Gram Negativas, normalmente insensibles a las bacteriocinas tales como *E. coli* o *Salmonella* se vuelven sensibles (Nollet & Toldrá, 2006).

6.3 Ácidos Orgánicos

Las bacterias ácido lácticas pueden producir una variedad de sustancias antimicrobianas, su efecto inhibitorio se debe principalmente a la reducción del pH y a la presencia de la forma no disociada de los ácidos orgánicos (Adams y Nicolaidis, 1997).

Entre los ácidos orgánicos, el acético es el que posee mayor poder y espectro de inhibición, actuando sobre bacterias, levaduras y mohos. El ácido láctico posee menor poder antimicrobiano, lo cual puede explicarse en parte al valor de su constante de disociación. En general, las bacterias Gram positivas son menos resistentes al efecto de los ácidos orgánicos ya que no poseen membrana externa, de manera que los ácidos orgánicos pueden penetrar más fácilmente hacia el interior de la célula (Brul y Coote, 1999). Sin embargo, estas bacterias pueden contar con mecanismos para sobreponerse al estrés de los ácidos. Por ejemplo, *Listeria monocytogenes* mantiene el pH intracelular expulsando H^+ , pero esto conlleva a un agotamiento de ATP, lo cual influye en la capacidad del microorganismo de sobrevivir indefinidamente bajo condiciones ácidas severas (pH 3,5) (Shabala, Lee, Cannesson y Ross, 2008).

Al utilizar ácido láctico en conjunto con otros compuestos antimicrobianos, podría generarse un efecto sinérgico, ya que este compuesto es capaz de permeabilizar membranas, mejorando así el efecto letal de otras sustancias como las bacteriocinas (Bastos y Ceotto, 2011). Aparte de los ácidos láctico y acético, se ha encontrado que el ácido propiónico posee un poder inhibitorio sobre hongos y bacterias (Calasso y Gobbetti, 2011).

La utilización de ácidos orgánicos o sus sales, en productos cárnicos han sido ampliamente documentada en diferentes estudios sobre la vida útil de productos cárnicos, en los que se ha demostrado su efectividad tanto en aves (Okolocha y Ellerbroek, 2005), cerdo (Dias, Da Silva Ávila y Schwan, 2011) y vacuno (Signorini,

Ponce y Guerrero, 2006). Los ácidos orgánicos en productos cárnicos tienen la denominación de GRAS (“Generally Recognised as Safe”) (Mani, García y López, 2012), y aunque no hay un límite para la mayoría de ellos en cuanto a la dosis diaria admitida, se debe considerar que estos productos producen cambios en el color y el sabor (Mani, García y López, 2012).

El tratamiento con ácido es efectivo para reducir la población microbiana de la superficie de la carne. Usualmente, se aplican a la canal después de retirar la piel (Burgess et al., 2008). El uso de ácido láctico se encuentra autorizado para reducir la contaminación de superficie de canales, piezas y recortes de carne de bovino, a una concentración entre el 2 y 5% (p/p) (Reglamento (UE) No 101/2013).

Investigaciones recientes han mostrado que el empleo de ácidos esenciales orgánicos como es el caso de aceite esencial de tomillo en 100 ppm en combinación con lactato de sodio, también pueden contribuir al control de *Listeria monocytogenes* aumentando la fase de latencia (Blanco, Betancourt, Lombana, Carrillo y Sotelo, 2017).

6.4 Lisozima

La lisozima es una glucoproteína con actividad enzimática, también se ha empleado como biopreservante (antimicrobiano) ya que logra la lisis de las células Gram positivas (estafilococos y estreptococos) y de algunas Gram negativas al hidrolizar la pared celular (Badui Dergal, Gálvez Mariscal y Pedroza Islas, 2013). Posee una actividad contra los enlaces glicosídicos β (1-4) entre el ácido N-acetil murámico y N-acetil glucosamina pertenecientes al peptidoglicano. La lisozima posee un alto interés en la industria alimentaria debido a que es una enzima natural producida por los animales, que posee actividad antimicrobiana. Se ha sugerido que la actividad de la lisozima es atribuida a las funciones enzimáticas y a su actividad catalítica independiente, lo cual permite que tenga actividad antimicrobiana frente

a las bacterias Gram negativas cuando la lisozima se presenta en un estado de desnaturalización. Se ha reportado que la temperatura óptima, así como el pH óptimo de la actividad enzimática es de 37 °C y 6 respectivamente. Han reportado el uso de la lisozima y la nisina como agentes antimicrobianos en una amplia gama de productos alimenticios. Así mismo, se ha estudiado el uso de la lisozima y la nisina como compuestos antimicrobianos para el uso en superficies de productos cárnicos frescos (Universidad de La Sabana, 2014).

6.5 Otros compuestos antimicrobianos de origen natural

En la Tabla 9, se muestra una descripción de los compuestos antimicrobianos de origen natural de diferentes fuentes.

Tabla 9. *Aplicaciones de antimicrobianos naturales*

Fuente de Antimicrobianos Naturales o Biológicos	Actividad	Uso
Cebolla	La actividad anti-levaduras y antifúngica de la cebolla se ha atribuido principalmente a la presencia de compuestos que contienen organosulfuro que inhiben el crecimiento de levaduras y hongos, como: <i>Candida albicans</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Penicillium cyclopium</i> o <i>Fusarium oxysporum</i> . También tiene acción frente a <i>E.coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> .	Ingrediente natural para retrasar el deterioro de los productos cárnicos, ya que es bien sabido que la preservación de la palatabilidad, el sabor, el color y el sabor sin agregar conservantes sintéticos.
Extractos de romero comercialmente solubles en aceite VivOX	Inhibición de la oxidación lipídica y actividad antimicrobiana en salchichas de pollo.	Salchichas de pollo al vacío.
Ajo fresco, ajo en polvo, aceite de ajo	Efectos antioxidantes y antimicrobianos.	Preservación de productos cárnicos.
Quitosano, agregado individualmente o en combinación con romero o α -tocoferol.	Inhibición del crecimiento microbiano.	Salchichas de cerdo frescas

Quitosano	Efectos antimicrobianos	Embutidos de cerdo envasados al vacío.
Natamicina	Eficiencia antifúngica	Productos cárnicos: salchicha
Carvacrol, timol, eugenol, perilaldehído, cinamaldehído y ácido cinámico	Actividad antimicrobiana contra: <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> , <i>Escherichia coli</i> O157: H7, <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Bacillus cereus</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> .	Carne fresca y productos cárnicos.
Aceites esenciales de albahaca, laurel, pimienta negra, canela, comino, ajo, limón, nuez moscada, naranja, orégano, perejil, romero, estragón y tomillo	Efecto antimicrobiano contra <i>Salmonella spp.</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	Salchichas curadas en seco; sin embargo, presenta limitaciones sensoriales

Fuente: (Pisoschi et al., 2018).

6.6 Bioconservantes comerciales

Probablemente el bioconservante comercial más popular sea la nisina, la única bacteriocina que se encuentra autorizada para su uso como conservante. La nisina fue evaluada y aprobada como conservante de alimentos para el control bacteriano (FAO/ OMS 1969a), y se identifica con el número E 234. La nisina está actualmente incluida en la categoría de GRAS (Generally Recognized As Safe = generalmente reconocidos como seguros) por la FDA (Food and Drug Administration, EE.UU.).

Es comercializada por varias casas comerciales entre ellas DuPont Danisco (Itasca, Illinois, Estados Unidos) con el nombre de Nisaplin®. Este producto contiene 2,5% de nisina (el resto lo componen sólidos lácteos provenientes del medio de cultivo en el que es producida, a partir de *L. lactis*) (Delves, 2005). La adición de nisina se encuentra autorizada en quesos, nata espesa (*clotted cream*) huevo líquido pasteurizado entre otros, según se indica en el Reglamento (UE) 1129/2011, y en cárnicos como lo describe el CODEX 2015/2016 (Tabla 10).

Las bacteriocinas también pueden ser aplicadas en alimentos sin purificarlas, a través de un producto fermentado que las contenga. Este es el caso de ALTA® 2351, comercializado por laboratorios Amerex S.A. (Colmenar Viejo, Madrid, España)

(Laboratorios Amerex, 2016). Se trata de un producto en polvo, que contiene la pediocina PA-1 (Mills, Stanton, Hill, y Ross, 2011).

Tabla 10. Casas comerciales y cultivos protectores

EMPRESA	PAIS	NOMBRE	CEPA O CULTIVO PRETECTOR	MICROORGANISMOS DIANA	APLICACIÓN
CHR HANSEN	Dinamarca	B-LC-48	<i>Lb. Curvatus</i>	Bacterias de deterioro (heterofermentativas LABs, Bronchothix thermospacta) y <i>Listeria monocytogenes</i>	Rebanadas de carne fría, salchichas de hot dogs y salchichas frescas
		B-2	<i>Lb. Sakei</i>		Salchichas frescas
		B-FM	<i>Lb. Sakei S. xylosus</i>		
DANISCO	Dinamarca	HOLDBAC™ <i>Listeria</i>	<i>Lb. Rhamnosus Lb. paracasei</i> <i>Propionibacterium freudenreichii subsp. Shermanii</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> y microorganismos de deterioro tales como levaduras, mohos y enterococos	Embutidos secos y semi secos, cárnicos frescos y cocidos
CanBiocin	Canadá	Micocin	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i> , <i>Carnobacterium piscicolin</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Productos empacados al vacío o atmósfera modificada, listos para consumir

Fuente: (Documento de Acceso Restringido, Tecnova, 2014).

7. Marco regulatorio en bioconservantes específicamente frente a *Listeria monocytogenes*.

En el marco normativo internacional del Codex Alimentarius y en línea con la política de seguridad alimentaria a nivel global se establecen diferentes criterios microbiológicos en función de dos factores de riesgo: la susceptibilidad de la población a la que se destina el alimento y la posibilidad que el alimento favorezca o no el crecimiento del patógeno durante su vida útil. En la Unión Europea (UE), se establece un máximo de 100 UFC/gramos durante la vida útil de los productos no destinados a la población de riesgo (niños, ancianos, mujeres embarazadas o inmunodeprimidos), independientemente de si el patógeno puede o no crecer en los productos. Por otro lado, la legislación de países como Estados Unidos y Japón en un principio era muy restrictiva, ya que establecían una política de “tolerancia cero” (ausencia en 25g) frente a este patógeno, exigiéndolo tanto en alimentos cárnicos listos para consumo, como en el ambiente de producción. No obstante, estos países han ido flexibilizando su normativa, usando únicamente el criterio de “tolerancia cero” para los productos listos para consumo donde la *Listeria* es capaz de crecer (ICEX, 2014) (García y Bermejo, 2014). Uno de los primeros factores que determina el nivel de tolerancia, es la forma en que será consumido el alimento. Así es como la mayoría de los países que cuentan con regulación para este patógeno, establecen límites para los alimentos listos para consumir (ALC) o también conocidos como ready to eat (RTE), como se muestra en la Tabla 11.

Tabla 11. Tolerancia para *Listeria monocytogenes*

País	Niveles de tolerancia para <i>Listeria monocytogenes</i>	Referencia
Argentina	Ausente en 25 gramos	La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT), Ministerio de Salud-Argentina.
Colombia	Ausente en 25 gramos	CAC/GL 61 -2007
Estados Unidos	Ausente en 25 gramos	FDA
Japón	Ausente en 25 gramos	
Unión Económica Euroasiática	Ausente en 25 gramos	
México	Ausente en 25 gramos	NORMA Oficial Mexicana NOM-242-SSA1-2009
Unión Europea	Máx 100 UFC/gramos durante la vida útil (sin embargo de no poder garantizar y demostrar científicamente que durante la vida útil no se excederán las 100 UFC/g, se exigirá ausencia en 25 gramos).	Codex Alimentarius

Fuente: (Velasco, 2017).

La principal necesidad que se presenta en Colombia, es la verificación de la normatividad existente y la legislación utilizada por parte de las Industrias Cárnicas para el uso de ingredientes y aditivos utilizados en sus formulaciones. Actualmente, el uso de bioconservantes en este tipo de Industria es ampliamente utilizado, sin generar ningún efecto nocivo en la calidad sensorial del alimento y sin afectar sus características fisicoquímicas.

No obstante, es necesario determinar las condiciones de aplicación de dosis máximas permitidas para el uso de bioconservantes, en productos embutidos crudos, cocidos y madurados, definidos o aprobados por las principales organizaciones de regulación en Colombia y en el mundo, para *Listeria monocytogenes*. Uno de los bioconservantes más utilizados en la Industria de cárnicos, es la Nisina, la cual es un péptido, que pertenece a las bacteriocinas lantibióticas (Clase I) y es considerado uno de los antimicrobianos más importantes y disponibles comercialmente, que se emplea como un conservante de alimentos antibacteriano seguro y natural en más

de 50 países (Hwanhlem, Ivanova, Haertlé, Jaffrès y Dousset, 2017). Por esta razón, dando respuesta al objetivo general de este trabajo de revisión, se determinó que el bioconservante de referencia con dosis máximas permitidas es Nisina, por tal razón la Tabla 12 muestra la comparación de concentraciones máximas permitidas por la legislación de los diferentes países.

Se realizó una comparación entre las concentraciones máximas permitidas de Nisina, según las revisiones realizadas de las siguientes organizaciones regulatorias: Ministerio de Salud (Colombia), la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios - COFEPRIS (México), el Codex Alimentarius, la Comisión Nacional de Salud y Planificación Familiar de la Republica Popular (China), la Agencia Brasileña de Regulación de la Salud - ANVISA (Brasil) y la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica - ANMAT (Argentina), como lo muestra la Tabla 12.

Tabla 12. Concentraciones máximas permitidas de Nisina por países

Ente Regulatorio	Productos	Nisina	Referencia
Ministerio de Salud- Colombia	Cárnicos	125 mg/kg	Res. 4125 de 1991
COFEPRIS- México	Productos Cárnicos	12,5 mg/kg	Acuerdo por el que se determinan los aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, su uso y disposiciones sanitarias de 2012. Anexo 1
Codex Alimentarius	Productos cárnicos de aves de corral y caza elaborados, tratados térmicamente, en piezas enteras o en cortes	25 mg/kg	CODEX STAN 192:1995 Revisión 2016.
	Productos cárnicos de aves de corral y caza picados, elaborados y tratados térmicamente	25 mg/kg	
	Envolturas o tripas comestibles (embutidos)	7 mg/kg	
Comisión Nacional de Salud y Planificación Familiar de la República Popular de China	Productos de carne precocida	500 mg/kg	Norma Higiénica para el uso de aditivos alimentarios GB 2760-2014
	Productos de carne tratada por el calor	500 mg/kg	

Agencia Brasileña de Regulación de la Salud (ANVISA) - Brasil	Aditivos, Aditivos y sus Límites Máximos De uso para la Categoría 8 - Carnes y Productos Cárneos ", que figura en el Anexo de esta Ordenanza.	No registra	Ordenanza n° 1004 de 11 de Diciembre de 1998
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) - Argentina	Productos Cárnicos	No registra	Artículo 286 del Código Alimentario Argentino Resolución Conjunta SPyRS N° 104/2005 y SAGPyA N° 414/2005

Fuente: (Velasco, 2017).

Analizando las concentraciones de Nisina aceptadas en Colombia, se puede observar que es necesario realizar una evaluación sobre la normatividad vigente, pues de acuerdo con la información de las organizaciones regulatorias revisadas, se evidencia que Colombia es el segundo país que permite la adición más alta (125 mg/kg), luego de China que permite 500 mg/kg.

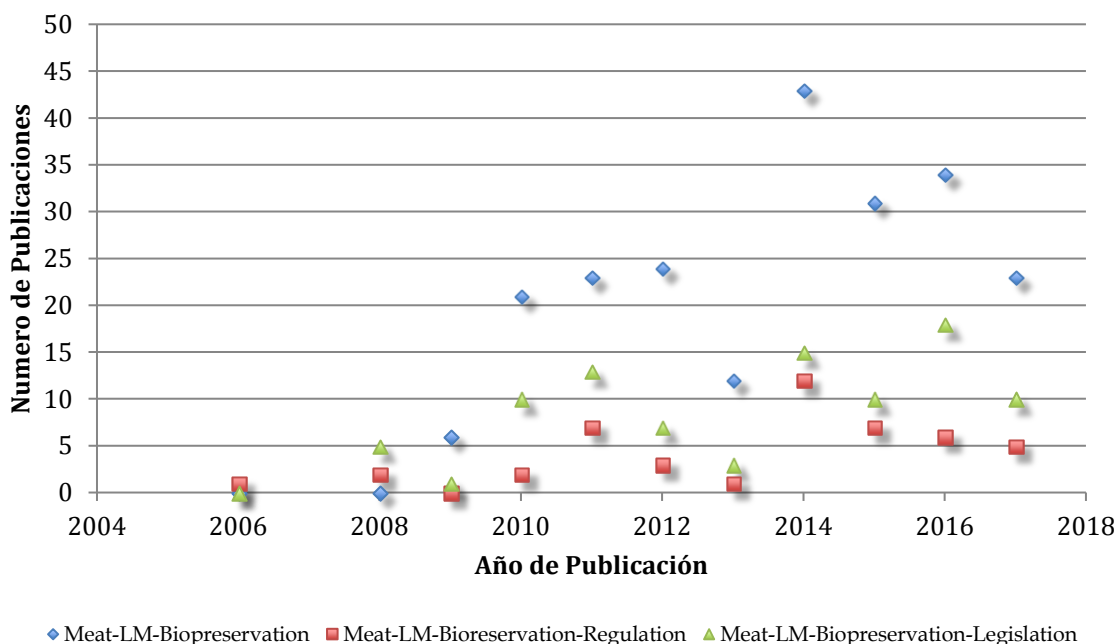
Lamentablemente, no se puede conocer con exactitud la cantidad de nisina adicionada a las formulaciones de los embutidos crudos, cocidos y madurados elaborados a nivel nacional, así como existen industrias cárnicas que se rigen actualmente en Colombia por el Codex Alimentarius para ser más estrictos sus controles de proceso y garantizar productos más saludables para el consumidor, otras industrias cárnicas exceden de manera inapropiada la adición de bioconservantes, de manera directa o indirecta según los ingredientes utilizados. Es necesario, sensibilizar a los fabricantes de los productos cárnicos embutidos para que generen una fabricación más saludable y segura para el consumidor y que garantice el cumplimiento de los lineamientos normativos para asegurar la calidad y la inocuidad del producto.

Teniendo en cuenta los impactos que causa *Listeria monocytogenes* a nivel de salud y directamente en la industria cárnica, en los últimos años se han incrementado los estudios e iniciativas referentes a este microorganismo y sus asociaciones con productos cárnicos. Sumado a lo anterior los gobiernos y diversas organizaciones

de control gubernamentales y no gubernamentales, han ido desarrollando gestiones por lo cual se definieron las palabras *legislación* (conjunto de leyes que regulan determinada materia o ciencia) y *regulación* (consiste en el establecimiento de normas, reglas o leyes dentro de un ámbito determinado), como importantes palabras claves dentro de la búsqueda.

La búsqueda de información con las palabras claves Meat + *Listeria monocytogenes* + Biopreservation + Regulation muestra que para el año 2006 se hacen las primeras publicaciones y es para 2014 en donde las publicaciones se incrementaron en un 98.58%, mostrando el interés creciente hasta el año 2014. Específicamente para los temas de regulación y legislación, podría decirse que en promedio se encuentran cinco publicaciones al año, como se presenta en la Figura 6.

Figura 6. Publicaciones referentes a bioconservación en carnes con énfasis en *Listeria monocytogenes* (2008-2017)

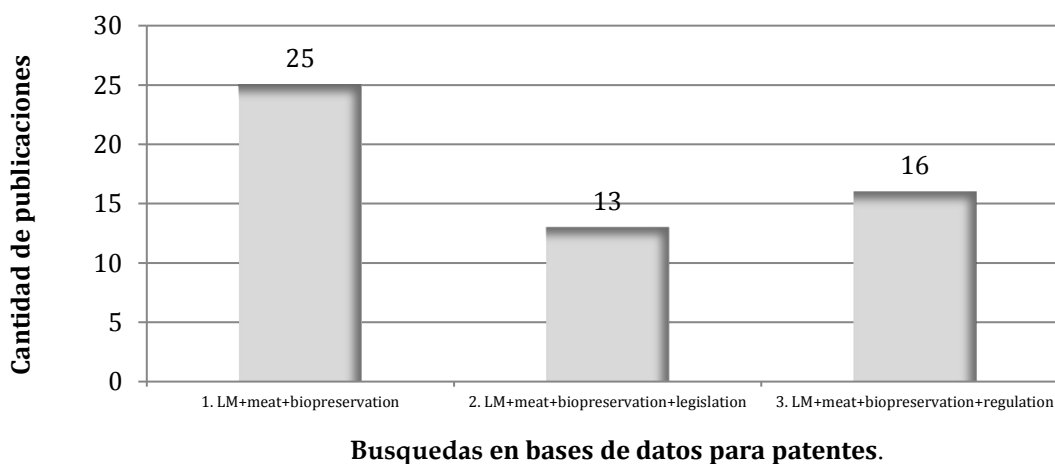


Fuente: Science Direct (Elaboración Propia). Búsqueda Octubre-Noviembre-Diciembre 2017)

En línea con la relevancia que ha adquirido *Listeria monocytogenes* en cárnicos y su influencia en los marcos normativos y por tanto en el sector industrial, la misma búsqueda se realizó para los tres grupos de palabras claves encontrando un total de 54 resultados divididos como se muestra en la Figura 5. Se evidencia que la legislación es un tema que va en menor interés para las publicaciones científicas encaminadas a patentes (figura 6).

Entre el año 2006 y 2014 las publicaciones se incrementan en un 98.58%. En promedio se encontraron cinco publicaciones al año (Figura 6). En línea, con la relevancia que ha adquirido *Listeria monocytogenes* en cárnicos y su influencia en los marcos normativos y para el sector industrial, se encontró que solo el 24% hace referencia a legislación para *Listeria monocytogenes* (Figura 7).

Figura 7. Resultado de las búsquedas con palabras claves en bases de patentes



Fuente: Buscador Google Patents (Elaboración Propia). (Búsqueda Octubre-Noviembre-Diciembre 2017)

8. Gestión del Riesgo

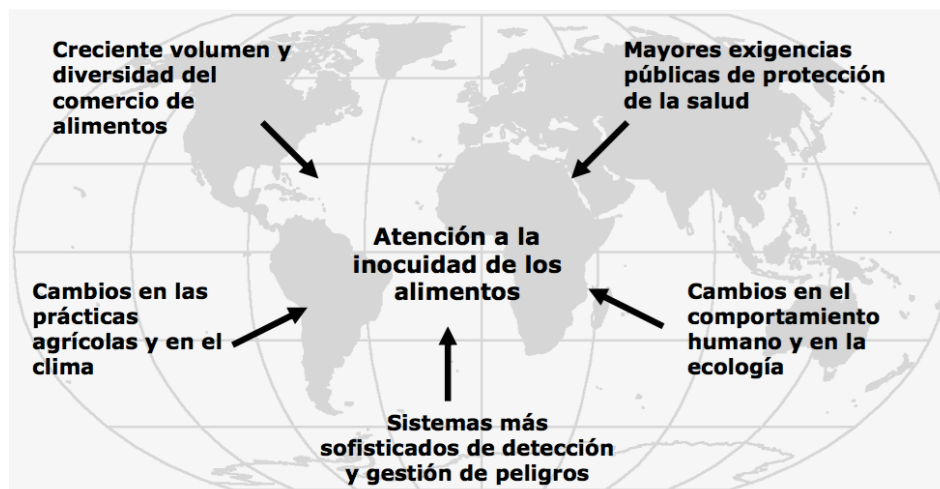
El mandato constitucional en Colombia, debe brindar servicios de protección a la salud de los colombianos lo cual se desarrolla mediante la gestión del riesgo en salud, la importancia de este tema radica en que la gestión del riesgo en salud es una responsabilidad asignada explícitamente en la normatividad vigente, a nivel macro (Sistema de Protección Social, Sistema General de Seguridad Social Integral y Sistema Nacional de Gestión del Riesgo), a nivel meso (Ministerio de Salud y Protección Social, Superintendencia Nacional de Salud, Instituto Nacional de Salud, Invima, EPS e IPS) y a nivel micro (talento humano en salud y al autocuidado de los ciudadanos) (Superintendencia Nacional de Salud, 2014).

La gestión del riesgo, es el proceso en el cual se puede identificar la vulnerabilidad de las poblaciones ante una amenaza, luego analizar las posibles consecuencias derivadas del impacto de la amenaza sobre esa población, delimitar la incertidumbre relativa a la ocurrencia del evento crítico que se desea evitar y generar mecanismos para reducir la amenaza, la vulnerabilidad y para afrontar el evento crítico si llegara a ocurrir (Superintendencia Nacional de Salud, 2014).

El avance de los conocimientos científicos sobre los peligros que provocan enfermedades transmitidas por los alimentos y de los riesgos que dichos peligros representan para los consumidores, junto con la capacidad de adoptar intervenciones adecuadas, se deberían permitir a los gobiernos y al sector privado reducir significativamente los riesgos relacionados con la alimentación, mejorando la salud pública, desarrollando sistemas eficaces de inocuidad de los alimentos y manteniendo la confianza de los consumidores en el suministro alimentario, con lo cual se podría establecer un sólido cimiento normativo para el comercio nacional e internacional de alimentos (FAO, 2007). Un factor de riesgo, se considera como

cualquier rasgo, característica o exposición de un individuo que aumente la probabilidad de sufrir una enfermedad o lesión ("OMS | Factores de riesgo", 2018).

Figura 8. Factores que impulsan los cambios en la gestión de inocuidad de los alimentos



Fuente: (Organización Mundial De La Salud Organización De Las Naciones Unidas Para La Agricultura Y La Alimentación, 2007).

El análisis de riesgos es un proceso estructurado de toma de decisiones integrado por tres componentes: Evaluación de Riesgos, Gestión de Riesgos y Comunicación de Riesgos. Así pues, en este tema de análisis de inocuidad de los alimentos los peligros microbiológicos requieren estrategias de gestión y un planteamiento de gestión de riesgos diferentes que traten de mantener los riesgos dentro de límites tolerables, en vez de eliminarlos totalmente.

8.1 Importancia de Gestión de Riesgo en la Inocuidad Alimentaria.

Las mezclas de hábitos y de culturas a nivel global y la diversidad de efectos en la salud de los consumidores han logrado en los últimos años que la sociedad y los entes gubernamentales y no gubernamentales estén interesados con lo que sucede en su entorno. Los organismos internacionales y los gobiernos reconocen la necesidad de evaluar y gestionar los riesgos para la salud y comunicarlos a todos los

actores involucrados (Moreno y Peres, 2011). Aunque comúnmente el concepto de inocuidad no está tan presente en el público general y muchas veces la palabra resulta lejana para muchas personas, entidades internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS) reconocen que la variable es muy relevante en materia de detrimento de la calidad de vida de las poblaciones cuando no se gestiona adecuadamente.

Según la OMS, año tras año millones de personas enferman o mueren debido al consumo de alimentos insalubres. Las enfermedades diarreicas son las causantes de la muerte de cerca de 1,8 millones de niños al año, debido al uso de aguas o alimentos contaminados aunado a prácticas inadecuadas de preparación de alimentos. A su vez, cerca de 75% de las enfermedades infecciosas humanas aparecidas en los últimos diez años han sido ocasionadas por productos de origen animal que no han contado con una gestión adecuada de la variable (Forbes, 2012).

8.2 Gestión de riesgo en *Listeria monocytogenes* para productos cárnicos

La evaluación cuantitativa de riesgos asociados a los peligros microbiológicos en los alimentos es actualmente una de las actividades que la Comisión del Codex Alimentarius (CAC) considera prioritarias. En su 32a reunión, el Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos (CCFH) identificó una lista de combinaciones de patógeno y producto para las que necesitaba el asesoramiento de expertos en evaluación de riesgos. En respuesta a esta necesidad y a las necesidades de sus países miembros, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) pusieron en marcha conjuntamente un programa de trabajo cuyo objetivo es proporcionar asesoramiento por expertos sobre evaluación de riesgos asociados a los peligros microbiológicos en los alimentos (Buchanan, Gorris and Hayman, 2017). La tabla 13 muestra la evolución desde el año 2003 al 2010 en cuanto al manejo del riesgo para *Listeria monocytogenes*.

La evaluación de riesgos de FDA/FSIS 2003 utilizó una combinación de funciones matemáticas para el modelo de dosis-respuesta, aunque la más predominante fue la función logística-exponencial. El modelo FAO/OMS (2004) utilizó la función exponencial porque tenía solo un parámetro, el valor r , que podía ajustarse a los datos limitados que estaban disponibles. Ambas evaluaciones de riesgo crearon modelos separados con diferentes valores de parámetros para cada uno de los grupos de susceptibilidad, en la Tabla 13 se comparan los criterios de gestión de riesgo, para los años 2003, 2004 y 2010. Dada la baja incidencia de listeriosis en la población a pesar de la frecuente exposición a *Listeria monocytogenes*, estos modelos suponen que las enfermedades se producen con mayor frecuencia por la exposición a altas dosis. Entonces los modelos pudieron predecir además que, a bajas dosis y tasas de enfermedad características de la listeriosis, la tasa de infección es directamente proporcional a la dosis (Buchanan, Gorris and Hayman, 2017).

La reducción de la incertidumbre de los modelos de dosis-respuesta mejora la capacidad de las evaluaciones de riesgos para proporcionar información útil para las organizaciones gestoras de riesgos. La mejora del modelo exponencial se logró suponiendo que el valor r tiene una distribución logarítmica normal que refleja la variabilidad inherente en la dosis, la virulencia de la cepa, la susceptibilidad individual y la matriz alimentaria (Pouillot, Hoelzer, Chen y Dennis, 2014).

Tabla 13. Consideraciones de la Legislación Internacional para la Gestión del Riesgo en *Listeria monocytogenes*.

FDA-CFSAN/USDA/FSIS 2003	FAO/WHO - 2004	FSIS - 2010 Evaluaciones de Riesgo y Seguimiento
<p>En el año 2003 fue diseñada una estrategia para determinar los casos de listeriosis por varias categorías de alimentos RTE en los Estados Unidos (US FDA/FSIS, 2003).</p> <p>Se desarrolló un modelo de dosis-respuesta que dadas las frecuencias y los niveles determinados de <i>L. monocytogenes</i> en el consumo, predeciría el número de enfermedades y muertes que se encontraban en la base de datos epidemiológicos de los Centros para el Control de Enfermedades (CDC).</p>	<p>Para el año 2014 la Organización (OMS) realizó la "Evaluación de riesgos de <i>Listeria monocytogenes</i> en alimentos listos para el consumo", fue la primera evaluación internacional de riesgos microbiológicos solicitada por el Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos como base para desarrollar una de sus normas (FAO/OMS, 2004a, FAO / OMS, 2004b).</p> <p>Dentro de esta evaluación se identificó a las carnes como la principal categoría de alimentos por causar listeriosis.</p>	<p>Después de que la evaluación de riesgos de FDA/FSIS en 2003. El FSIS desarrolló un programa regulatorio para reducir la exposición del consumidor a <i>L. monocytogenes</i> en estos productos, en donde incluyo no solo a los entes de control y vigilancia sino también a la industria.</p>
<p>Los alimentos que se identificaron como favorecedores del crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> y con mayor riesgo de causar listeriosis por porción fueron según este estudio: carnes frías, salchichas, patés y productos untables de carne, leche no pasteurizada, mariscos ahumados, crustáceos cocidos.</p>	<p>Esta evaluación de riesgos encontró que casi todos los casos de listeriosis son el resultado del consumo de alimentos con altos niveles de <i>L. monocytogenes</i> que excederían tanto un límite de tolerancia cero (es decir 0 UFC/25 g) como un límite de 100 UFC/g.</p>	<p>Los datos de contaminación de esta nueva evaluación mostraron que las carnes frías rebanadas y empacadas en la tienda delicatessen se contaminaron de cinco a siete veces más frecuentemente que las carnes frías rebanadas y empacadas por un fabricante reconocido.</p>
	<p>Estas comparaciones demostraron la importancia e incidencia de los recuentos altos de <i>L. monocytogenes</i> en el momento del consumo en la etiología de la listeriosis, ligado a los alimentos que favorecen el crecimiento de <i>L. monocytogenes</i> como vehículos de especial preocupación para los entes de vigilancia.</p>	<p>Así pues, luego de las revisiones realizadas en esta ocasión, se determinó que cuando todos los productos tuvieran inhibidores del crecimiento, habría pocos casos de listeriosis atribuibles a las carnes frías Gallagher et al. (2016).</p>

Fuente: (Velasco, 2017)

Considerando la información nacional disponible asociada al consumo de los derivados cárnicos cocidos LPC industrializados (salchicha, jamón, mortadela y salchichón), y debido principalmente a la escasa información se plantearon cuatro escenarios de trabajo, los cuales presentan incertidumbre relacionada con la calidad de la información y la representatividad para Colombia. Los escenarios planteados para estimar el número de habitantes colombianos que podrían enfermar de listeriosis permitieron evidenciar el efecto que la prevalencia de *Listeria monocytogenes* en el producto y su concentración tiene sobre la proporción de habitantes enfermos en una población intermedia (sana) y susceptible. Para el caso de población sana mostraron que si la prevalencia se reduce de 25% a 4.42% la tasa de enfermedad disminuye de 22 a 4 por 10.000 habitantes, pero si la concentración del patógeno es menor de 0,04 UFC/g la tasa disminuye a 0,087 por 10.000 habitantes (Instituto Nacional De Salud, 2015).

8.3 Proyección de los resultados

En el anexo 2, se presenta una reflexión de la Industria Cárnica en Colombia.

9. Conclusiones

- Se recopilaron los criterios de aplicación de bioconservantes reconocidos por las organizaciones nacionales e internacionales; se evidenció que el más utilizado y reconocido es la Nisina, de la cual se utilizan dosificaciones en el continente americano entre los 7mg/kg de producto hasta 25mg/kg de producto, demostrando que la dosificación de 125mg/kg de nisina aceptada por la legislación Colombiana llame la atención ya que supera cuatro veces lo establecido en el Codex Alimentarius para los productos cárnicos. Luego de China, la cual permite la adición de 500 mg/kg, Colombia es el país que permite mayor adición de bioconservantes en productos cárnicos sin hacer diferencia alguna entre los productos.
- Las condiciones de aplicación de dosis máximas permitidas para el uso de bioconservantes, en productos embutidos crudos, cocidos y madurados, definidos o aprobados por las principales organizaciones de regulación en Colombia y en el mundo, para *Listeria monocytogenes*, deberían ser establecidas según el tipo de producto, generando una clasificación clara y puntual que tenga en cuenta la carne fresca, los productos cárnicos en piezas enteras, en cortes, lo productos elaborados entre otros; garantizando que se adapte a las necesidades de las pequeñas, medianas y grandes Industrias Cárnicas Colombianas.
- Luego de la revisión sistemática realizada en este trabajo se evidencia que la Legislación Colombiana, podría presentar una actualización frente a lineamientos de organizaciones de reconocimiento internacional en materia de el riesgo frente a *Listeria monocytogenes* .
- Es necesario que las Industrias Cárnicas Colombianas, sean sometidas a monitoreo y revisiones constantes, verificando la eficiencia de los sistemas de control de inocuidad que tienen en las plantas de elaboración de productos cárnicos embutidos frente a un marco de gestión de riesgos.

10. Recomendaciones

- Se debe realizar un acompañamiento continuo, por parte de los Organismos encargados de la Vigilancia y el Control a las Industrias Cárnicas Colombianas, sobre todo a las pequeñas y medianas; pues muchas de estas no conocen, ni están relacionadas con el riesgo que es tener *Listeria monocytogenes* en los productos terminados ni en las plantas de procesamiento. Generando planes específicos para cada una de las plantas, según las necesidades, el tipo de proceso de elaboración que realicen y su capacidad de producción.
- Se deben generar estrategias por parte de los Organismos encargados de la Vigilancia y el Control a las Industrias Cárnicas Colombianas, las cuales permitan la divulgación de conocimiento (fácil de entender, digerible y accesible), logando acercar y concientizar a los fabricantes de embutidos frente a los conceptos críticos de inocuidad y de riesgo, como por ejemplo, la presencia de *Listeria monocytogenes* en sus plantas y el uso inadecuado de bioservantes en las formulaciones.
- Las Cadenas de Retail, deben generar conciencia y cultura a cada una de las organizaciones que elaboran productos marca propia y comercial, fomentando el adecuado uso de bioconservantes y garantizando la implementación adecuada y consistente de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y HACCP.
- Las Cadenas de Retail, deben desarrollar a las Industrias Cárnicas Colombianas pequeñas y medianas, para garantizar que el consumidor adquiera productos de muy calidad, inocuos y con formulaciones adecuadas para su salud.
- Es necesario que se genere una conciencia de responsabilidad compartida, parte del productor en la Industria Cárnica y las Cadenas de Retail, que garantice la venta y el consumo de productos saludables e inocuos.

11. Bibliografía

- Adams, M. and Nicolaidis, L. (1997). Review of the sensitivity of different foodborne pathogens to fermentation. *Food Control*, 8(5-6), pp.227-239.
- Agudelo Londoño, N., Torres Taborda, M., Alvarez Lopez, C., & Velez Acosta, L. (2015). Bacteriocinas Producidas Por Bacterias Ácido Lácticas Y Su Aplicación En La Industria De Alimentos. *Revista Alimentos Hoy*, 23(36), 186 - 205.
- AESAN, C. (2011). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los estudios de vida útil para *Listeria monocytogenes* en determinados productos alimenticios. *Revista Del Comité Científico*, 14, 43-63.
- Algino, R., Badtram, G., Ingham, B., & Ingham, S. (2009). Factors Associated with Salmonella Prevalence on Pork Carcasses in Very Small Abattoirs in Wisconsin. *Journal Of Food Protection*, 72(4), 714-721.
- Allen, K., Wałęcka-Zacharska, E., Chen, J., Katarzyna, K., Devlieghere, F., & Van Meervenne, E. et al. (2016). *Listeria monocytogenes* - An examination of food chain factors potentially contributing to antimicrobial resistance. *Food Microbiology*, 54, 178-189.
- Alvarez Ordóñez, A., Broussolle, V., Colin, P., Nguyen The, C. and Prieto, M. (2015). The adaptive response of bacterial food-borne pathogens in the environment, host and food: Implications for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 213, pp.99-109.
- Ansaldi, M., Marolt, D., Stebe, T., Mandic-Mulec, I., & Dubnau, D. (2002). Specific activation of the Bacillus quorum-sensing systems by isoprenylated pheromone variants. *Molecular Microbiology*, 44(6), 1561-1573.
- Antón, A., & Lizaso, J. *Nitritos, Nitratos y Nitrosaminas*. Retrieved 15 September 2017. (website).
- Aymerich M.T, Hugas M. (1998). Estado actual de la bioconservación en productos cárnicos. *Eurocarnes* 72: 39-49
- Aymerich, T., Garriga, M., Ylla, J., Vallier, J., Monfort, J., & Hugas, M. (2000). Application of Enterocins as Biopreservatives against *Listeria innocua* in Meat Products. *Journal Of Food Protection*, 63(6), 721-726.
- Badui Dergal, S., Gálvez Mariscal, A., & Pedroza Islas, R. (2013). *Química de los alimentos*. Naucatlan de Juárez, México: Pearson.
- Bhandare, S., Sherikar, A., Paturkar, A., Waskar, V., & Zende, R. (2007). A comparison of microbial contamination on sheep/ goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. *Food Control*, 18(7), 854-858.
- Bastos, M. C. F. & Ceotto, H. (2011). Bacterial antimicrobial peptides and food preservation. In *Natural Antimicrobials in Food Safety and Quality*, pp. 62-76. Edited by M. Ray & M. Chikindas. Wallingford: CAB International.

- Blanco Lizarazo, C.M., Betancourt Cortés,R., Lombana, A., Carrillo Castro, K., Sotelo Díaz, I. 2017. *Listeria monocytogenes* behaviour and quality attributes during sausage storage affected by sodium nitrite, sodium lactate and thyme essential oil. *Food Science and Technology International* 23(3) 277–288.
- Blanco Lizarazo, C., Sotelo Díaz, I., & Llorente Bousquets, A. (2016). In vitro modelling of simultaneous interactions of *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus sakei*, and *Staphylococcus carnosus*. *Food Science And Biotechnology*, 25(1), 341-348.
- Blanco Ríos F a., Casadiego Ardila G, Pacheco P a. Calidad microbiológica de alimentos remitidos a un laboratorio de salud pública en el año 2009. *Rev Salud Pública*. 2011 Dec;13(6):953 65.
- Bohrer, B. (2017). Review: Nutrient density and nutritional value of meat products and non-meat foods high in protein. *Trends In Food Science & Technology*, 65, 103-112.
- Buchanan, R., Gorris, L. and Hayman, M. (2017). A review of *Listeria monocytogenes*: An update on outbreaks, virulence, dose-response, ecology, and risk assessments. *Food Control*, 75, pp.1-13.
- Brul, S., & Coote, P. (1999). *Preservative agents in foods Mode of action and microbial resistance mechanisms* (1st ed.). International journal of food microbiology.
- Calo-Mata, P., Arlindo, S., Boehme, K., de Miguel, T., Pascoal, A. and Barros-Velazquez, J. (2007) Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. *Food Bioprocess Technol*, 1, 43–63.
- Carrascal Camacho Ana K., Mejia Wagner Diana C., Gonzales Rueda Viviana and Poutou Piñales Raul A. (2014) Risk factors favoring the presence of *Listeria monocytogenes* in Colombian pork-meat processing plants. *Academic Journals* 8(18) pp. 1899-1908.
- Codex Alimentarius. (2013). *Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comité del codex sobre aditivos alimentarios*. (pp. 1-4).
- Código Alimentario Argentino. (2017). Alimentos cárneos y afines .Capítulo VI.
- Chen H., Hoover D.G. (2003): Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2: 82–100.
- Chong, G., Kimyon, O., Rice, S., Kjelleberg, S., & Manefield, M. (2012). The presence and role of bacterial quorum sensing in activated sludge. *Microbial Biotechnology*, 5(5), 621-633.
- Datta S., A. Akter, I Shah, K. Fatema, T. Islam, A. Bandyopadhyay, Z. Khan, D. Biswas (2012). Microbiological quality Assessment of raw meat and meat products, and antibiotic susceptibility of isolated *Staphylococcus aureus*. *Agriculture, Food and Analytical Bacteriology* 2: 187-194.

- Decreto 2162 de 1983 (agosto 1), reglamenta parcialmente al Título V de la Ley 9 de 1979, en cuanto a producción, procesamiento, transporte y expendio de los productos cárnicos procesados. Diario Oficial, agosto 30 de 1983.
- Delcenserie V, Martel D, Lamoureux M, Amiot J, Boutin Y, Roy D. (2008) Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Curr Issues Mol Biol.* 10 pp 37-54.
- Delves-Brought, J. (2005). Nisin as a food preservative, *Food Australia*, 57, pp. 525-527.
- Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21(6), pp.703-714.
- Dias, F., da Silva Ávila, C. and Schwan, R. (2011). In situ Inhibition of *Escherichia coli* Isolated from Fresh Pork Sausage by Organic Acids. *Journal of Food Science*, 76(9), pp.M605-M610.
- Documento de Acceso Restringido, Tecnova, 2014
- Doyle, M. P., Beuchat, L. R. and Montville, T.J. (eds.) 2001. *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 2nd edition. American Society for Microbiology Press, Washington, D.C.
- Elika - Fundación Vasca Para La Seguridad Agroalimentaria (2006). *Listeria monocytogenes*. Granja Modelo.
- Fernández KJ, Chanci IC, Wilches L, Cardona JA. Caracterización de los metabolitos de bacterias ácido lácticas y efecto inhibitorio de las bacteriocinas en microorganismos patógenos en alimentos: revisión sistemática de la literatura, 2008-2012. *Revista Biosalud* 2014; 13 (1): 45-61.
- Forbes, R. (2012). Importancia de la gestión de la inocuidad alimentaria e instrumentos para su implementación en la empresa. *CEGERTIS*, (200), pp.1-4.
- Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. and Omar, N. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1-2), pp.51-70.
- García, B. and Bermejo, B. (2014). Evaluación De Riesgos De *Listeria monocytogenes* En Productos Cárnicos Listos Para Su Consumo En España. Máster Universitario en Gestión de la Calidad y Seguridad Alimentaria. Universidad Politécnica de Valencia.
- Gamboa Marín A, Buitrago M S, Pérez Pérez K, Mercado R M, Poutou Piñales R, Carrascal Camacho A. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in pork-meat and other processed products from the Colombian swine industry. *Rev MVZ Córdoba*. 2012;17(1):2827-33
- Gallego MI, Torrós O, Soto Y, Duque DC, Benítez C. *Listeria monocytogenes* en canales de ganado Holstein en una planta de sacrificio en la Sabana de Bogotá (Colombia). *Rev UDCA Actual Divulg Científica*. 2005;6(1):49-56.

- Garriga, M., Aymerich, M., Costa, S., Monfort, J., & Hugas, M. (2002). Bactericidal synergism through bacteriocins and high pressure in a meat model system during storage. *Food Microbiology*, 19(5), 509-518.
- Gill, C., & Jones, T. (1995). The presence of *Aeromonas*, *Listeria* and *Yersinia* in carcass processing equipment at two pig slaughtering plants. *Food Microbiology*, 12, 135-141.
- González H., M., Yien, W., Castrillón V., J., & Ortega P., Á. (2013). Adición De Carnobacterium Maltaromaticum Cb1 En Chorizo Y Morcilla Empacados Al Vacío, Para Inhibir El Crecimiento De *Listeria monocytogenes*. *Vitae, Revista De La Facultad De Química Farmacéutica*, 20(1), 23-29.
- Guerrero, I. and Taylor, A. (1994). Meat Surface Decontamination Using Lactic Acid from Chemical and Microbial Sources. *LWT - Food Science and Technology*, 27(3), pp.201-209.
- Hwanhlem, N., Ivanova, T., Haertlé, T., Jaffrès, E., & Dousset, X. (2017). Inhibition of food-spoilage and foodborne pathogenic bacteria by a nisin Z-producing *Lactococcus lactis subsp. lactis* KT2W2L. *LWT - Food Science And Technology*, 82, 170-175.
- Holzapfel, W., Geisen, R. and Schillinger, U. (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 24(3), pp.343-362.
- Hugas, M. (1998). Bacteriocinogenic lactic acid bacteria for the biopreservation of meat and meat products. *Meat Science*, 49, pp.S139-S150.
- Instituto Nacional de Salud. (2015). Evaluación de riesgo de *Listeria monocytogenes* en salchicha, jamón, mortadela y salchichón en Colombia. Bogota
- Invima. 2016. Estudio Microbiológico (*Listeria monocytogenes*, *Salmonella Spp*, *Staphylococcus Aureus*) Y Físicoquímico (Concentración De Nitrito De Potasio Y Sodio), En Derivados Cárnicos Listos Para Consumo (Lpc). (pp. 1-31).
- Jacobsen, T., Budde, B., & Koch, A. (2003). Application of *Leuconostoc carnosum* for biopreservation of cooked meat products. *Journal Of Applied Microbiology*, 95(2), 242-249.
- Jay J., Loessne M. and Golden, D. (2005). *Modern food microbiology*. New York: Springer.
- Jemmi, T. and Stephan, R. (2006). La *Listeria monocytogenes*, un agente patógeno transmitido por los alimentos que también sirve de indicador de higiene. *Revue Scientifique et Technique de l'OIE*, 25(2), pp.571-580.
- Koohmaraie, M., Arthur, T., Bosilevac, J., Guerini, M., Shackelford, S., & Wheeler, T. (2005). Post-harvest interventions to reduce/eliminate pathogens in beef. *Meat Science*, 71(1), 79-91.
- Lakicevic, B., & Nastasijevic, I. (2016). *Listeria monocytogenes* in retail establishments: Contamination routes and control strategies. *Food Reviews International*, 33(3), 247-269. Lakicevic, B., Nastasijevic, I., & Raseto, M. (2015).

Sources of *Listeria monocytogenes* Contamination in Retail Establishments. *Procedia Food Science*, 5, 160-163.

- López de Torre, G., & Caraballo, B. (1993). *Manual de bioquímica y tecnología de la carne*. Madrid: Ediciones Vicente.
- Lücke, F. (2000). Utilization of microbes to process and preserve meat. *Meat Science*, 56(2), pp.105-115.
- Malanovic, N., & Lohner, K. (2016). Antimicrobial Peptides Targeting Gram-Positive Bacteria. *Pharmaceuticals*, 9(4), 59.
- Mani López, E., García, H. and López Malo, A. (2012). Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. *Food Research International*, 45(2), pp.713-721.
- McDonald, K., & Sun, D. (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal Of Food Microbiology*, 52(1-2), 1-27.
- McLaughlin, J., Mitchell, R.T., Smerdon, W.J. and Jewell, K. (2004) *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *Int J Food Microbiol* 92, 15–33.
- Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación (MAGyP) (2012). Buenas Prácticas Pecuarias (BPP) para la producción y comercialización porcina familiar. Buenos Aires-Argentina: Jorge Brunori.
- Mills, S., Stanton, C., Hill, C. and Ross, R. (2011). New Developments and Applications of Bacteriocins and Peptides in Foods. *Annual Review of Food Science and Technology*, 2(1), pp.299-329.
- Moreno, A. and Peres, F. (2011). El estado del arte de la comunicación de riesgos en la región de América Latina. *Revista de Comunicación y Salud*, 1(1), pp.52-68.
- Moreno PA. Serotipificación molecular y susceptibilidad antimicrobiana de *Listeria monocytogenes*, aislada de carne y derivados de origen porcino, en el departamento del Tolima. Pontificia Universidad Javeriana.
- Muñoz AI, Vargas M, Otero L, Díaz G, Guzmán V. Presencia de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo , procedentes de plazas de mercado y delicatessen de supermercados de cadena , Bogotá , D . C , 2002-2008. *Biomédica*. 2011;31:428 39.
- Murray, M., & Richard, J. (1997). Comparative Study of the Antilisterial Activity of Nisin A and Pediocin AcH in Fresh Ground Pork Stored Aerobically at 5°C. *Journal Of Food Protection*, 60(12), 1534-1540.
- Nealson KH, Platt T, Hastings JW. Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *J Bacteriol*. 1970;104:313–322
- Nilsson, L., Ng, Y., Christiansen, J., Jorgensen, B., Grotnum, D. and Gram, L. (2004). The contribution of bacteriocin to inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Carnobacterium piscicola* strains in cold-smoked salmon systems. *Journal of Applied Microbiology*, 96(1), pp.133-143.

- Nollet, L., & Toldrá, F. (2006). *Avance Technologies for Meat*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, LLC.
- Nørnung B., J. K. Andersen and S. Buncic (2009). Main Concerns of Pathogenic Microorganisms in Meat Safety of Meat and Processed Meat. F. Toldrá, ed. (Springer New York), pp. 3-29.
- Okolocha, E. and Ellerbroek, L. (2005). The influence of acid and alkaline treatments on pathogens and the shelf life of poultry meat. *Food Control*, 16(3), pp.217-225.
- OMS | Factores de riesgo. (2018). *Who.int*. Retrieved 15 January 2018, from http://www.who.int/topics/risk_factors/es/
- Organización de las Naciones Unidas y La Alimentación Para La Agricultura FAO (2007). *Análisis de Riesgos Relativos a la Inocuidad de los Alimentos: Guía para las autoridades nacionales de inocuidad de los alimentos*. Roma.
- Pawar, D., Malik, S., Bhilegaonkar, K., & Barbuddhe, S. (2000). Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of *Listeria monocytogenes* added to raw buffalo meat mince. *Meat Science*, 56(3), 215-219. [http://dx.doi.org/10.1016/s0309-1740\(00\)00043-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0309-1740(00)00043-7)
- Pérez Rubiano C, Mercado Reyes M, Carrascal Camacho AK. Incidencia de *Listeria spp.* en carcasas de pollo congelado en un supermercado del nororiente de Bogotá. *NOVA*. 2008;6(10):141 6.
- Pisoschi, A., Pop, A., Georgescu, C., Turcuş, V., Olah, N., & Mathe, E. (2018). An overview of natural antimicrobials role in food. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 143, 922-935.
- Pouillot, R., Hoelzer, K., Chen, Y. and Dennis, S. (2014). *Listeria monocytogenes* Dose Response Revisited-Incorporating Adjustments for Variability in Strain Virulence and Host Susceptibility. *Risk Analysis*, 35(1), pp.90-108.
- Porto, M., Kuniyoshi, T., Azevedo, P., Vitolo, M., & Oliveira, R. (2017). *Pediococcus spp.*: An important genus of lactic acid bacteria and pediocin producers. *Biotechnology Advances*, 35(3), 361-374.
- Reis, J., Paula, A., Casarotti, S. and Penna, A. (2012). Lactic Acid Bacteria Antimicrobial Compounds: Characteristics and Applications. *Food Engineering Reviews*, 4(2), pp.124-140.
- Rodríguez, N. (2013). *Efecto De La Bacteria Ácido Láctica B2® Como Biopreservante, Sobre Los Patógenos De Interés, La Microbiota Natural Y Las Propiedades Fisicoquímicas En Un Producto Cárnico Terminado*. Universidad de La Sabana.
- Rodríguez, R. 1996. Higiene y sanidad de las carnes de consumo. Jornada: Las Carnes en la Nutrición y Salud Humana. En *Estudios de la Academia Nacional de Ciencias de Buenos Aires*. Vol. 19, 13-27. Eds. Instituto Estudios Interdisciplinarios en Ciencia y Tecnología. Buenos Aires.
- Resolución 4125 de 1991. Ministerio de Salud, Colombia. Disponible en: http://web.invima.gov.co/portal/documents/portal/documents/root//resolucion_4125_1991.pdf

- Schillinger, U., Geisen, R. and Holzapfel, W. (1996). Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservation of foods. *Trends in Food Science & Technology*, 7(5), pp.158-164.
- Shabala, L., Lee, S., Cannesson, P., & Ross, T. (2008). Acid and NaCl Limits to Growth of *Listeria monocytogenes* and Influence of Sequence of Inimical Acid and NaCl Levels on Inactivation Kinetics. *Journal Of Food Protection*, 71(6), 1169-1177.
- Settanni, L. and Corsetti, A. (2008). Application of bacteriocins in vegetable food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 121(2), pp.123-138.
- Signorini, M., Ponce Alquicira, E. And Guerrero Legarreta, I. (2006). Effect Of Lactic Acid And Lactic Acid Bacteria On Growth Of Spoilage Microorganisms In Vacuum-Packaged Beef. *Journal of Muscle Foods*, 17(3), pp.277-290.
- Somers, E., & Lee Wong, A. (2004). Efficacy of Two Cleaning and Sanitizing Combinations on *Listeria monocytogenes* Biofilms Formed at Low Temperature on a Variety of Materials in the Presence of Ready-to-Eat Meat Residue. *Journal Of Food Protection*, 67(10), 2218-2229.
- Stiles, M. (1996). Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70(2-4), pp.331-345.
- Superintendencia Nacional de Salud. (2014). *Marco conceptual y legal sobre la gestión de riesgo en Colombia: Aportes para su implementación* (pp. 4-10).
- Tajbakhsh, M., Karimi, A., Fallah, F., & Akhavan, M. (2017). Overview of ribosomal and non-ribosomal antimicrobial peptides produced by Gram positive bacteria. *Cellular And Molecular Biology*, 63(10), 20.
- *Testing Program for RTE Meat and Poultry*. (2017). *Fsis.usda.gov*. Retrieved 3 November 2017 (Webside).
- *Timeline for Linking a Case of Listeria Infection to an Outbreak | Listeria | CDC*. (2016). *Cdc.gov*. Retrieved 5 October 2017, from <https://www.cdc.gov/listeria/timeline.html> (Webside)
- Turan, N., Chormey, D., Büyükpınar, Ç., Engin, G., & Bakirdere, S. (2017). Quorum sensing: Little talks for an effective bacterial coordination. *Trac Trends In Analytical Chemistry*, 91, 1-11.
- Universidad de La Sabana. (2014). *Informe Tecnico Final Elaboración de Embutidos, Cárnicos Bioconservados, Código Colciencias 123045425385* (pp. 62-75). Bogotá.
- Van Mierlo, K., Rohmer, S., & Gerdessen, J. (2017). A model for composing meat replacers: Reducing the environmental impact of our food consumption pattern while retaining its nutritional value. *Journal Of Cleaner Production*, 165, 930-950.
- Varsha, K., & Nampoothiri, K. (2016). Appraisal of lactic acid bacteria as protective cultures. *Food Control*, 69, 61-64.
- Vázquez Boland, J., Domínguez Bernal, G., González Zorn, B., Kreft, J., & Goebel, W. (2001). Pathogenicity islands and virulence evolution in *Listeria*. *Microbes And Infection*, 3(7), 571-584.

- Venegas O, Valladares C. Clasificación de los productos cárnicos. Instiuto de Investigación para la Industria Alimenticia. Rev. Cubana Aliment Nutr 1999; 13 (1): 63-67.
- Vera HI, Ferro CJ, Triana LM. Prevalencia de *Listeria monocytogenes* en derivados cárnicos cocidos para consumo directo analizados en el Laboratorio de Salud Pública, Bogotá 1 de septiembre 2001 - 31 agosto del 2004. Bogotá; 2006.
- Winkowski, K., Crandall, AD., Montville, TJ. (1993) Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Lactobacillus bavaricus* MN in beef systems at refrigeration temperatures. Applied and Environmental Microbiology, Aug. 1993, p. 2552-2557.
- Wolffs P., P. Radstrom (2006). Real-time PCR for the detection of pathogens in meat. Capítulo 6, En: Advanced Technologies for Meat Processing, L.M.L. Nollet y F. Toldrá, Ed., Food Science and Technology-New York-Marcel Dekker, pp. 131- 154.
- Zacharof, M. and Lovitt, R. (2012). Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. APCBEE Procedia, 2, pp.50-56.

ANEXO 1 GLOSARIO DE SIGLAS

ADN: Acido desoxirribonucleico

AIP: Péptidos inductores automáticos

ANVISA: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria

ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

ALC: Alimentos listos para consumo

BPP: Buenas Prácticas Pecuarias

BAL: Bacterias Acido Lácticas

CDC: Centros para el Control y Prevención de Enfermedades

COFEPRIS: Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios

CAC: Comisión del Codex Alimentarius

CCFH: Comité del Codex Alimentarius sobre la Higiene de los Alimentos.

ETAS: Enfermedades transmitidos por alimentos

ESFA: Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos

FSIS: Servicio de inspección y seguridad alimentaria

GRAS: Generalmente Reconocido como Seguro

HACCP: El Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control

INVIMA: Instituto Nacional de Vigilancia de Alimentos y Bebidas

JECFA: Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios

LPC: Productos listos para consumo

OMS: Organización Mundial de la Salud

RTE: Ready to Eat

TVC: Bacterias Totalmente Viables

TIA: Toxiinfecciones Alimentaria

UE: Unión Europea

USDA: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

ANEXO 2

BIOCONSERVACION PARA LA INDUSTRIA CÁRNICA COLOMBIANA ¿ EMPLEO DE NISINA ALGO POR RESOLVER?

Velasco-Briceño, Denis Alejandra^a. Sotelo-Díaz, Indira^b.

^a Universidad de La Sabana-Facultad de Ingeniería-Campus del Puente del Común-Km.7, Autopista Norte de Bogotá-Chía, Cundinamarca.
denisvebr@unisabana.edu.co

^b Universidad de La Sabana-Grupo de Investigación Alimentación, Gestión de Procesos y Servicio.-Campus del Puente del Común-Km.7, Autopista Norte de Bogotá-Chía, Cundinamarca. indira.sotelo@unisabana.edu.co

Resumen

Los consumidores y las industrias están interesados en adquirir y consumir alimentos libres de patógenos, con la menor cantidad de aditivos (químicos o biológicos), que no alteren las características sensoriales y que cumplan con la legislación y los referentes normativos a un nivel global. En este contexto, este trabajo busca revisar el estado del arte de los bioconservantes para la aplicación frente a *L. monocytogenes* definidos o aprobados por las organizaciones regulatorias en Colombia y en el mundo para productos embutidos crudos, cocidos y madurados a través de una verificación del estado del arte en Science Direct y Google Patents utilizando las palabras claves: Meat + *Listeria monocytogenes* + Biopreservation + Regulation. Se encontró que entre el año 2006 y 2014 las publicaciones incrementaron en un 98.58%. En línea con la relevancia que ha adquirido *L. monocytogenes* en cárnicos y su influencia en los marcos normativos y para el sector industrial, de 54 resultados solo el 24% hace referencia a legislación para *L. monocytogenes*. En conclusión el bioconservante mas es utilizado y referenciado en los diferentes países es la Nisina, que es adicionada en un

rango de 7mg/kg hasta 500 mg/kg de producto. En Colombia se excede hasta cuatro veces la adición permitida por el Codex Alimentarius.

Introducción

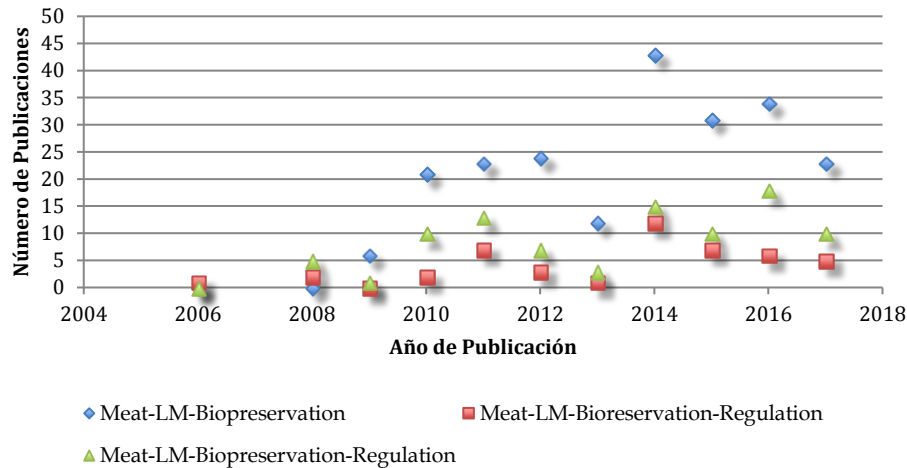
Un bioconservante, es una sustancia de origen natural que posee una actividad antimicrobiana y es capaz de detener o reducir el deterioro de los alimentos (Devlieghere, Vermeulen y Debevere, 2004). Se justifica si incorporación para el mantenimiento o la extensión de la vida útil de los alimentos por medio de compuestos antimicrobianos producidos por sustancias orgánicas o por microorganismos, fundamentalmente bacterias ácido lácticas. La carne (principalmente la cruda), además de ser altamente susceptible a deterioro, también puede ser un vehículo para la propagación de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) (Bhandare, Sherikar, Paturkar, Waskar y Zende, 2007). De otro lado, las clasificaciones de los productos cárnicos son diversas y se basan en criterios tales como tipos de materias primas que los componen, la estructura de su masa, si están o no embutidos, si se someten o no a la acción de calor o algún otro proceso característico en su tecnología de elaboración, la forma del producto terminado, su durabilidad o cualquier otro criterio o nombres derivados de usos y costumbres tradicionales (Venegas y Vallares, 1999). Por tanto, *L. monocytogenes*, puede estar presente en alimentos crudos tanto de origen vegetal y animal, y se puede encontrar en alimentos cocinados debido a la contaminación post-procesamiento (Álvarez et al., 2015). Así el objetivo fue revisar el estado del arte de los bioconservantes para la aplicación frente a *L. monocytogenes* definidos o aprobados por las organizaciones regulatorias en Colombia y en el mundo para productos embutidos crudos, cocidos y madurados.

Materiales y Métodos

Se realizó una revisión del estado del arte en Science Direct y Google Patents utilizando las palabras claves Meat + *Listeria monocytogenes* + Biopreservation + Regulation, con el fin de establecer los principales criterios para la aplicación de bioconservantes en productos cárnicos.

Resultados

Figura 1. Publicaciones referentes a bioconservación en carnes con énfasis en *Listeria monocytogenes* (2008-2017)



Fuente: Buscador Google Patents (Elaboración Propia. Búsqueda Octubre-Noviembre-Diciembre 2017)

Figura 2. Resultado de la búsqueda con palabras claves en bases de patentes

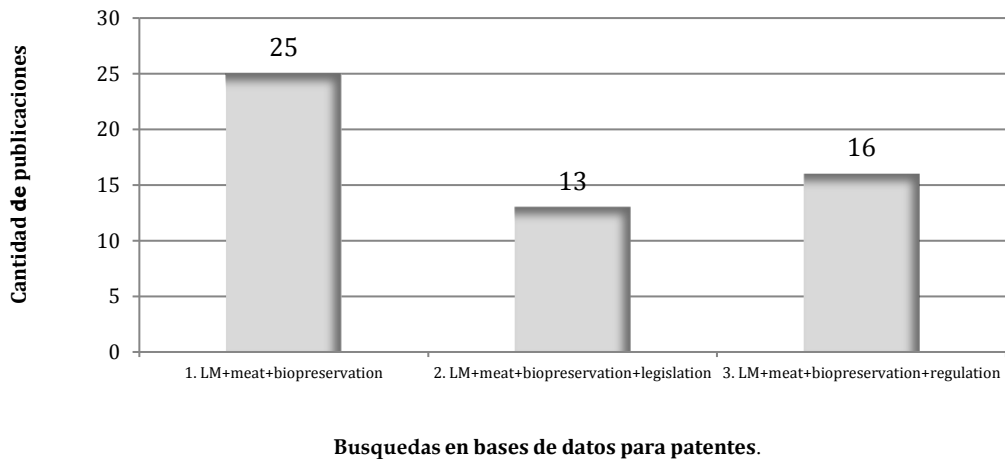


Tabla 1. Concentraciones máximas permitidas de Nisina por países

Ente Regulatorio	Productos	Nisina	País
Ministerio de Salud-Colombia	Cárnicos	125 mg/kg	Colombia
COFEPRIS- México	Productos Cárnicos	12,5 mg/kg	México
Codex Alimentarius	Productos cárnicos de aves de corral y caza elaborados, tratados térmicamente, en piezas enteras o en cortes	25 mg/kg	Organismo Intergubernamental
	Productos cárnicos de aves de corral y caza picados, elaborados y tratados térmicamente	25 mg/kg	
	Envolturas o tripas comestibles (embutidos)	7 mg/kg	
Comisión Nacional de Salud y Planificación Familiar de la República Popular de China	Productos de carne precocida	500 mg/kg	China
	Productos de carne tratada por el calor	500 mg/kg	
Agencia Brasileña de Regulación de la Salud (ANVISA) - Brasil	Aditivos, Aditivos y sus Límites Máximos De uso para la Categoría 8 - Carnes y Productos Carneos ", que figura en el Anexo de esta Ordenanza.	No registra	Brasil
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) - Argentina	Productos Cárnicos	No registra	Argentina

Fuente: (Elaboración propia).

Discusión

El estado del arte mostró que entre el año 2006 y 2014 las publicaciones se incrementan en un 98.58%. En promedio se encontraron cinco publicaciones al año (Figura 1). En línea con la relevancia que ha adquirido *L. monocytogenes* en cárnicos y su influencia en los marcos normativos y para el sector industrial, se encontraron 54 resultados en donde solo el 24% hace referencia

a legislación para *L. monocytogenes* (Figura 2). Se evidenció que el bioconservante de mayor empleo es la Nisina, (Tabla 1), se utiliza en el continente americano entre los 7mg/kg de producto hasta 25mg/kg de producto, la dosificación de 125mg/kg de nisina aceptada por la legislación Colombiana supera cuatro veces lo establecido en el Codex Alimentarius para los productos cárnicos. Luego de China, que permite la adición de 500 mg/kg de producto, Colombia es el país Latino Americano, que permite mayor adición de bioconservantes en productos cárnicos sin hacer diferencia alguna entre los tipos de productos.

Conclusiones

La Nisina, es el bioconservante de mayor empleo, la dosificación de 125mg/kg aceptada por la legislación Colombiana supera cuatro veces lo establecido en el Codex Alimentarius para los productos cárnicos. Así luego de China, que permite 500 mg/kg, Colombia es el país que permite mayor adición de bioconservantes en productos cárnicos sin hacer diferencia entre los productos.

Bibliografía

- Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21(6), pp.703-714.
- Bhandare, S., Sherikar, A., Paturkar, A., Waskar, V., & Zende, R. (2007). A comparison of microbial contamination on sheep/goat carcasses in a modern Indian abattoir and traditional meat shops. *Food Control*, 18(7), 854-858.
- Venegas O, Valladares C. Clasificación de los productos cárnicos. Instituto de Investigación para la Industria Alimenticia. *Rev. Cubana Aliment Nutr* 1999; 13 (1): 63-67.

- Alvarez Ordóñez, A., Broussolle, V., Colin, P., Nguyen The, C. and Prieto, M. (2015). The adaptive response of bacterial food-borne pathogens in the environment, host and food: Implications for food safety. *International Journal of Food Microbiology*, 213, pp.99-109.

ANEXO 3

**ANEXO 4,61
MINISTERIO DE SALUD
RESOLUCION NUMERO 4125 DE 1991
(Abril 5de 1991)**

Por la cual se reglamenta el Título V Alimentos, de la Ley 02 de 1979, en lo concerniente a los CONSERVANTES utilizados en alimentos.

EL MINISTRO DE SALUD

en uso de sus atribuciones legales y en especial las conferidas por la Ley 09 de 1979 y en desarrollo del artículo 60 del Decreto 2106 de julio 26 de 1988 y

CONSIDERANDO:

Que es necesario establecer normas sobre Aditivos Alimentarios,

RESUELVE:

ARTICULO 1o. Denominense CONSERVANTES sustancias o mezclas de sustancias que impiden o retardan el proceso biológico de alteración, producido en los alimentos por 10s microorganismos o las enzimas

ARTICULO 2o. Para efectos de la presente resolución se permite la utilización de los siguientes Conservantes en los productos alimenticios en las cantidades máximas siguientes:

1 Acido benzoico y sus sales de calcio, potasio y sodio	1000 mg/kg
2 Acido propiónico y sus sales de calcio, potasio y sodio hasta	3000 mg/kg
3 Acido sórbico y sus sales de calcio, potasio y sodio hasta	1000 mg/kg
4 Ascorbato de calcio	1000 mg/kg
5 Dióxido de azufre y sus sales, bisulfito, metabisulfito y sulfito de calcio, potasio y sodio hasta	1500 mg/kg
6 Hexametileno tetramina	600 mg/kg
7 Nisina	125 mg/kg
8 Nitratos de potasio y sodio hasta	500 mg/kg
9 Nitritos de potasio y sodio hasta	200 mg/kg
10 Parahidroxibenzoatos de etilo, metilo y propilo	1000 mg/kg

Documento completo:

https://www.invima.gov.co/images/stories/resoluciones/resolucion_4125_1991.pdf

ANEXO 4

CODEX ALIMENTARIUS

NORMAS INTERNACIONALES DE LOS ALIMENTOS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

E-mail: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

NORMA GENERAL PARA LOS ADITIVOS ALIMENTARIOS

CODEX STAN 192-1995

Adoptado en 1995. Revisión 1997, 1999, 2001, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009,
2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016.

Documento completo:

ANEXO 5

**NORMA TÉCNICA
COLOMBIANA**

**NTC
1325**

2008-08-20

**INDUSTRIAS ALIMENTARIAS.
PRODUCTOS CÁRNICOS PROCESADOS NO
ENLATADOS**



E: FOOD INDUSTRIES. PROCESSED MEAT PRODUCTS NON
CANNED

CORRESPONDENCIA:

DESCRIPTORES: productos cárnicos; carnes frías;
productos de salsa mentaría; charcutería;
chacinería; embutidos; productos a
base de carne; producto alimenticio.

Documento completo:

<https://es.slideshare.net/jamesdays/ntc1325-9772139>

ANEXO 6

Traducción no oficial de la Consejería Agrícola de la Embajada Argentina en la R. P. China. Se agradece la colaboración de la Sección Económica-Comercial de la Embajada de España en la R. P. China.



中华人民共和国国家标准

GB 2760—2014

食品安全国家标准

食品添加剂使用标准

NORMA HIGIÉNICA PARA USO DE
ADITIVOS ALIMENTARIOS

2014-12-24 Publicación

2015-05-24 Implementación

Publicado por la Comisión Nacional de Salud y Planificación Familiar de la
República Popular de China

i

Documento completo:

ANEXO 7

CAPÍTULO VI

ALIMENTOS CÁRNEOS Y AFINES

CARNES DE CONSUMO FRESCAS Y ENVASADAS

Artículo 247 (Resolución Conjunta SPRel y SAV N° 12-E/ 2017)

Con la denominación genérica de carne, se entiende la parte comestible de los músculos de vacunos, bubalinos, porcinos, ovinos, caprinos, llamas, conejos domésticos, nutrias de criadero, pollos, pollas, gallos, gallinas, pavitos, pavitas, pavos, pavas, patos domésticos, gansos domésticos y codornices, declarados aptos para la alimentación humana por la inspección veterinaria oficial antes y después de la faena.

Con la misma definición se incluyen a los animales silvestres de caza o criados en cautiverio, pescados, crustáceos, moluscos y otras especies comestibles.

Por extensión se considera carne al diafragma y músculos de la lengua, no así los músculos de sostén del aparato hioideo, el corazón y el esófago.

La carne será limpia, sana, debidamente preparada, y comprende a todos los tejidos blandos que rodean al esqueleto, incluyendo su cobertura grasa tendones, vasos, nervios, aponeurosis y todo aquellos tejidos no separados durante la operación de la faena.

Artículo 248

Se considera como Carne fresca, la proveniente del faenamiento de animales y oreada posteriormente, que no ha sufrido ninguna modificación esencial en sus características principales y presenta color, olor y consistencia característicos.

La carne de ganado fresca que se expendía después de 24 horas de haber sido sacrificada la res, debe mantenerse a una temperatura no mayor de 5°C en cámaras frigoríficas.

Las carnes estarán limpias, exentas de piel y vísceras. Selladas por la inspección sanitaria, salvo en animales pequeños o en las especies y casos debidamente autorizados en que esté permitida.

Es obligatorio reservar las partes selladas de las reses que tengan el sello de la inspección sanitaria que certifica su buena aptitud para el consumo, a los efectos de su presentación cada vez que sea requerida por los funcionarios fiscalizadores. La no observancia de esta regla hace que las reses se consideren como de sacrificio clandestino y quien las expendía o exponga se hará pasible de las penalidades correspondientes.

Artículo 249 - (Res. MSyAS N° 254, 24.04.97)

Derogado.

Artículo 250

Se considera Carne abombada o manida, la que en la iniciación de la putrefacción superficial ha perdido los caracteres de la carne fresca.

Artículo 251

Se considera como Carne flaca, cuando a simple vista no puede verse ni grasa ni tejido fibroso; se considera magra, cuando es de una escasa gordura; grasa o gorda, cuando contiene grasa macroscópica en regular o abundante cantidad y fibrosa, cuando predomina en ella el tejido conjuntivo.

Documento completo:

http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_VI_2017.pdf