

Enfoque multiestratégico para incrementar la seguridad alimentaria en productos cárnicos

Margarita Garriga, Teresa Aymerich, Sara Bover-Cid, Anna Jofré, Belén Martín, Nicoletta Belletti
IRTA-Industrias Alimentarias. Finca Camps i Armet s/n. 17121 Monells. Tel. 972630052
margarita.garriga@irta.cat

MICRAL, grupo de Microbiología de los Alimentos en el IRTA-Monells es un Grupo de Investigación Consolidado reconocido por la Generalitat de Catalunya (2009SGR-1323). En el marco del Programa de Seguridad Alimentaria del IRTA, se están desarrollando desde hace más de dos décadas actividades de investigación financiadas con fondos nacionales y europeos con el objetivo genérico de contribuir al aumento de la calidad y seguridad alimentaria de productos cárnicos, principalmente.

A continuación se describen brevemente las líneas de investigación del grupo.

CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA DE PRODUCTOS CÁRNICOS TRADICIONALES

El consumidor actual prefiere el consumo de embutidos crudo-curados menos ácidos (pH >5,3). Ello ha potenciado el interés por conocer las particularidades de la microbiota tecnológica de este tipo de productos que definen sus características sensoriales finales. En este contexto, se han aislado más de 1.500 cepas bacterianas de interés tecnológico, incluyendo lactobacilos, estafilococos y enterococos, observándose que la predominancia de la especie no depende sólo del producto sino también del país de origen y la planta productora. Además la evaluación higiénica de los embutidos, así como la del equipamiento de las fábricas, identificó diferentes puntos críticos que permitieron mejorar los planes APPCC de las industrias cárnicas estudiadas. Se editó una *guía de buenas prácticas* y un *tríptico* sobre los hábitos de los consumidores europeos en relación al consumo de embutidos fermentados tradicionales (<http://www1.clermont.inra.fr/tradisausage/>).

DESARROLLO DE CULTIVOS INICIADORES/BIOPROTECTORES/PROBIÓTICOS

La caracterización de la microbiota tecnológica de embutidos fermentado-curados, tipo salchichón, permitió seleccionar varias cepas de bacterias del ácido láctico (*L. sakei* CTC 494 y *Ent. faecium* CTC492) idóneas como cultivos iniciadores bioprotectores por las cualidades sensoriales conferidas al producto y por su capacidad antagonista frente a *Listeria monocytogenes*. Bien como cultivos iniciadores para la producción de embutidos fermentados, bien utilizando las bacteriocinas producidas para su aplicación en masa, en superficie o mediante envasado activo en productos cárnicos loncheados, se han obtenido resultados muy interesantes que ponen de manifiesto el potencial aplicativo de determinadas cepas para el incremento de la seguridad alimentaria en productos alimentarios.

En el campo de los probióticos, el grupo patentó y licenció hace unos años un cultivo anti-*salmonella* (*L. salivarius* CTC2197) de eficacia probada en aves de corral. Actualmente se está trabajando en la caracterización de cepas lácticas aisladas de neonatos para su utilización como cultivos probióticos en embutidos fermentado-curados nutricionalmente mejorados.

LAS NUEVAS TECNOLOGÍAS EN SEGURIDAD ALIMENTARIA

La combinación de antimicrobianos naturales y las tecnologías emergentes de conservación como las altas presiones hidrostáticas (AP) han sido investigadas mediante *challenge tests* (*L. monocytogenes*, *Salmonella* y *S. aureus*) en diferentes productos cárnicos. Se ha comprobado que la eficacia de la AP así como de la mencionada combinación de barreras para el control/eliminación de patógenos alimentarios es altamente dependiente del tipo de producto, observándose notables diferencias entre cárnicos cocidos, fermentados o curados. En general, la aplicación de antimicrobianos inhibe, limita o disminuye el crecimiento de los patógenos, pero es la aplicación combinada (antimicrobianos y AP) la que permite la consecución de los Objetivos de Seguridad Alimentaria (FSO) de los productos listos para el consumo (RTE=*ready to eat*) durante su vida útil.

La respuesta bacteriana al estrés causado por las nuevas tecnologías de conservación ha sido estudiada mediante proteómica y transcriptómica. *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis*, *E. faecium* y *L. sakei* evidencian respuestas a la AP, específicas de especie, que afectan a un amplio rango de funciones celulares, lo que condiciona su cultivabilidad. La intensidad de la respuesta depende tanto del nivel de presión como de los factores ambientales previos al tratamiento, solapándose con la respuesta observada frente a otros factores de estrés, como la sal o el frío, lo que explicaría la protección cruzada observada entre diferentes estreses.

Fruto de la actividad de investigación de los últimos años en el campo de la modelización-microbiología predictiva, se han desarrollado modelos predictivos de la inactivación inmediata inducida por altas presiones de *L. monocytogenes* y *Salmonella* spp. en jamón curado. Se pretende construir y validar modelos matemáticos que permitan cuantificar y predecir el grado de inactivación bacteriana en función de la intensidad (presión/tiempo) y temperatura del tratamiento en otros tipos de productos (e.g. cárnicos cocidos) así como la influencia de otros factores relevantes (e.g. a_w). La modelización de la potencial recuperación de los microorganismos presentes durante el almacenamiento permitirá predecir el período de vida útil segura de los alimentos listos para el consumo sometidos a tratamientos de presurización.

TÉCNICAS MOLECULARES RÁPIDAS PARA DETECTAR Y TRAZAR MICROORGANISMOS PATÓGENOS O TECNOLÓGICOS

Con el objetivo de mejorar y agilizar los procedimientos de detección, tipificación e identificación de patógenos alimentarios (*L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella*, *S. aureus* y *Campylobacter* termotolerante) el grupo ha desarrollado y validado técnicas moleculares basadas en PCR, altamente sensibles, tanto en uniplex como multiplex en diferentes matrices alimentarias, valorándose diferentes pre-tratamientos para obtener una máxima eficacia en cuanto a sensibilidad-tiempo del ensayo. La detección rápida de células viables mediante métodos de PCR combinados con fluoróforos diferenciales es otro de los puntos de interés en la investigación de nuestro grupo. Paralelamente los métodos de tipificación basados en PCR y secuenciación nos han permitido la identificación y monitorización rápida de los cultivos iniciadores bioprotectores en embutidos fermentados, así como la trazabilidad de los puntos críticos de contaminación bacteriana.

BIBLIOGRAFÍA RELEVANTE

- Talon R, Lebert I, Lebert A, Leroy S, Garriga M, Aymerich T, Drosinos EH, Zanardi E, Ianieri A, Fraqueza MJ, Patarata L y Lauková A (2007). Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. 1. Microbial ecosystems of processing environments. *Meat Sci.* 77:570-579.
- Marcos B, Aymerich T, Guàrdia MD y Garriga M (2007). Assessment of high hydrostatic pressure and starter culture on the quality properties of low-acid fermented sausages. *Meat Sci.* 76(1):46-53
- Jofré A, Champomier-Verges M, Anglade P, Baraige F, Martin B, Garriga M, Zagorec M y Aymerich T (2007). Protein synthesis in lactic acid and pathogenic bacteria during recovery from a high pressure treatment. *Res Microbiol.* 158:512-520.
- Jofré A, Aymerich T y Garriga M (2008). Assessment of the effectiveness of antimicrobial packaging combined with high pressure to control *Salmonella* sp. in cooked ham. *Food Control.* 19:634-638.
- Jofré A, Aymerich T, Grèbol N y Garriga M (2009). Efficiency of high hydrostatic pressure at 600 MPa against food-borne microorganisms by challenge tests on convenience meat products. *LWT-Food Sci Technol.* 42:924-928.
- Martín B, Corominas L, Garriga M y Aymerich T (2009). Identification and tracing of *Enterococcus* spp. by RAPD-PCR in traditional fermented sausages and meat environment. *J Appl Microbiol.* 106: 66-77.
- Ananou S, Garriga M, Jofré A, Aymerich T, Galvez A, Maqueda M, Martínez-Bueno M y Valdivia E (2010). Combined effect of enterocin AS-48 and high hydrostatic pressure to control food-borne pathogens inoculated in low acid-fermented sausages. *Meat Sci.* 84:594-600.
- Bover-Cid S, Belletti N, Garriga M y Aymerich T (2011). Model for *Listeria monocytogenes* inactivation on dry-cured ham by high hydrostatic pressure processing. *Food Microbiol.* 28:804-809.
- Martín B, Garriga M y Aymerich T (2011). Prevalence of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* at small-scale Spanish factories producing traditional fermented sausages. *J Food Protect.* 74(5): 812-815.
- Jofré A, Aymerich T, Bover-Cid S y Garriga M (2010) Inactivation and recovery of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* and *Staphylococcus aureus* after high hydrostatic pressure treatments up to 900 MPa. *Int Microbiol.* 13(3):105-112
- Hereu A, Bover-Cid S, Garriga M y Aymerich T (2011). High hydrostatic pressure and biopreservation of dry-cured ham to meet the Food Safety Objectives for *Listeria monocytogenes*. *Int J Food Microbiol.* In press. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.027.

Grupo de investigación en Seguridad Alimentaria y Microbiología de los Alimentos

Área de Nutrición y Bromatología. Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Campus Universitario. Universidad de León. E-mail: mlgarl@unileon.es

El grupo de investigación en Seguridad Alimentaria y Microbiología de los Alimentos tiene una dilatada trayectoria de más de 35 años en el estudio y la caracterización de microorganismos de interés en alimentos. Está constituido por 5 profesores doctores (personal de la Universidad de León) y un número variable de personal investigador en formación (7 en el momento presente) bajo la dirección de la Doctora M^a Luisa García López. El grupo está ubicado en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León y por esta razón siempre tuvo una dedicación principal hacia la Microbiología de los Alimentos de origen animal.

Las primeras investigaciones desarrolladas se centraron en *Staphylococcus aureus* y otros estafilococos coagulasa positivos presentes en alimentos de origen animal y su significado en

relación con la salud pública, dando lugar a varias tesis doctorales y diversas publicaciones en revistas internacionales.

Posteriormente se fue ampliando el campo de estudio, incorporando nuevos microorganismos emergentes, como *Listeria monocytogenes* o el grupo de *Aeromonas* móviles, abordando su detección y caracterización a partir de diferentes alimentos y nuevos métodos de análisis, basadas principalmente en las técnicas de biología molecular (PCR y Q-PCR, PFGE, DGGE).

En el momento presente, la actividad principal del grupo se enmarca en tres líneas de investigación: a) la evaluación de riesgos microbiológicos en alimentos (identificación y control de bacterias patógenas tolerantes al frío, detección y control