

IDENTIFICACIÓN DE PUNTOS DE CRÍTICOS DE CONTROL EN EL FLUJO TECNOLÓGICO DE UN CENTRO DE ELABORACIÓN Y LA PRESENCIA DE CONTAMINANTES BACTERIANOS EN MATERIAS PRIMAS Y PRODUCTOS TERMINADOS

Arce-Gonzalez, Miguel Angel ^a; miguelag@uclv.edu.cu

Rodríguez-Ramos, Roilan ^b

Camacho-Escandón, María Caridad ^a

Peña-Rodríguez, Freddy ^a

Avello-Oliver, Eida ^a

^a Universidad Central Marta Abreu de Las Villas, Santa Clara, Cuba.

^b Granja Agropecuaria Integral 5 de Marzo, Santa Clara, Cuba.

RESUMEN

El presente trabajo fue realizado en el centro de elaboración de la ciudad de Santa Clara. Se determinaron los puntos críticos de control y la presencia de contaminantes bacterianos en materias primas y productos terminados allí elaborados, en este caso los microorganismos pesquisados fueron, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., y *Staphylococcus aureus*. Se recogieron como muestras para la investigación la materia prima con que se elaboran los productos y las producciones finales, masa de croquetas, jamón, mortadella, entre otros. Las muestras fueron analizadas mediante el cultivo para dichos patógenos en el Laboratorio de Microbiología Animal de la facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad Central Marta Abreu Las Villas. No se detectó la presencia de *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ni *Staphylococcus aureus* en ninguno de los productos analizados, finalmente se realizó el estudio de los peligros y puntos críticos de control (HCCP) abarcando toda la línea de producción y concluimos que, determinando los peligros y puntos críticos de control en el flujo productivo de la unidad, es posible reducir las probabilidades de aislar *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp. y *Staphylococcus aureus* en materias primas y productos finales; por lo cual recomendamos, investigar el total de los productos elaborados y materias primas que forman parte del proceso tecnológico del Centro de Elaboración, habilitar el laboratorio de ensayos físico-químico y microbiológico existente en la unidad y Trabajar en la implementación del Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control.

Palabras claves: O157:H7, Análisis de Peligros, Puntos Críticos de Control

Introducción

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), constituyen uno de los problemas más extendidos en el mundo actual (Quevedo, 2011). La mayor causa de la colibacilosis y salmonelosis en humanos es producto del consumo de alimentos, en su mayoría de origen animal, que se encuentran contaminados con estas bacterias. La necesidad de reducir la incidencia de las ETA y garantizar un suministro seguro de alimentos a la población ha motivado la implementación de Sistemas de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP) en la cadena de

producción de alimentos **`FARM TO FORK`** o **`FARM TO TABLE`**, desde el productor hasta el consumidor (Cubillo, 2011). Teniendo en cuenta lo planteado anteriormente nos trazamos como objetivo, determinar los puntos críticos de control y la presencia de contaminantes bacterianos en materias primas y productos terminados del Centro de elaboración perteneciente a la granja integral 5 de marzo, específicamente, identificando los riesgos biológicos, químicos y físicos, así como los puntos críticos de control, y diagnosticando la presencia o no de *Escherichia coli*, O157:H7, *Salmonella* spp y *Staphylococcus aureus* en materias primas y productos terminados

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en el centro de elaboración de la granja integral 5 de marzo en el municipio Santa Clara, durante los meses de enero a mayo de 2014, para el mismo se realizó una descripción del flujo operacional que incluyo todas las operaciones realizadas durante la estadía de la materia prima, extensores y condimentos, hasta la elaboración, terminación y refrigeración del producto. Se elaboró un diagrama de flujo, donde se colocaron todos los datos del proceso de elaboración, así como la inclusión posterior de los resultados de la identificación de los Puntos Críticos de Control (PCC) y análisis de riesgos biológicos, químicos y físicos, según refiere (Caballero *et al.*, 1997, NC 136:2002 y NC ISO 22000:2005).

El muestreo de las materias primas y productos terminados se llevó a cabo una vez por semana siendo realizado por el especialista en control sanitario de la unidad, según lo establecido en la NC 559:2007. Fueron muestreados 2 lotes de cada producto elaborado en el tiempo que duró la investigación, para un total de 18; distribuidos de la siguiente manera: 2 extensores (Picadillo de pollo MDM), 4 materias primas (carne de cerdo y carne de res) y 12 productos terminados (Chorizo, Jamón, Butifarra, Salame, Mortadella y Masa de croqueta). Las muestras fueron trasladadas de forma refrigerada en bolsas estériles, hacia el Laboratorio de Microbiología Animal-VLIR de la Facultad de Ciencias Agropecuarias en la Universidad Central de Las Villas en donde se les realizaron las determinaciones microbiológicas correspondientes y que se muestran a continuación:

Identificación de *Escherichia coli* O157:H7

Se pesaron 25g de forma aséptica de la muestra investigada y se adicionaron a 225 ml de Agua de Tripton (OXOID) incubándose a 37°C durante 18-24 horas y luego mediante la técnica de agotamiento por estrías se inocularon placas Petri con Agar Mac Conkey Sorbitol (UNI-CHEM) para *Escherichia coli* O157:H7 que se incubaron a 37°C por 24 horas (NC ISO 7251:2011). Las colonias sorbitol negativas que se desarrollaron fueron aisladas en Agar Nutriente (UNI-CHEM) posteriormente se tomaron de 2 a 3 colonias y se transfirieron a un tubo que contenía 0,2 mL de solución salina lo que se corresponde con un 3 ó 5 del patrón de turbidez de McFarland, una vez culminado este paso se tomó 1 gota del tubo inoculado y se puso en contacto con el Kit Reactivo para prueba de látex de *Escherichia coli* O157:H7 (PRO-LAB Diagnostics PL. 070B, Canadá).

Identificación de *Salmonella*

Se pesaron 25g de forma aséptica de la muestra investigada y se adicionaron a 225 ml de Agua de Peptona Buferada (BioCen) incubándose a 37°C durante 18-24 horas, se transfirió 0,1 mL del cultivo a 10 mL del medio Caldo Rappaport Vassiliadis incubándose a 41,5°C durante 18-24 horas y luego mediante la técnica de agotamiento por estrías se inocularon placas Petri con Agar Verde Brillante y Agar Salmonella Shigella (BioCen), incubándose en condiciones de aerobiosis a 37°C durante 18-24 horas. Las colonias típicas rosadas (Agar Verde Brillante) y translúcidas con producción de SH₂ (Agar Salmonella Shigella) fueron sometidas a la identificación serológica primeramente con suero polivalente (A, B, C1, C2, D, E1, E2, E4, F) y luego con sueros monovalentes (A, B, C1, C2 y D) todos elaborados por la Industria Médica Farmacéutica (IMEFA) Carlos J. Finlay (NRAG 1009/1989 y NC 605:2008)

Identificación de *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva

Se pesaron 25g de forma aséptica de la muestra investigada y se adicionaron a 225 ml Caldo Infusión de Cerebro-Corazón (BioCen) incubándose a 37°C durante 18-24 horas, transcurrido este tiempo se inoculó 0,1 mL del cultivo en placas Petri con Agar Baird Parker extendiendo el inóculo en la totalidad del medio a través de una espátula de Drigalsky, posteriormente se incubó en condiciones de aerobiosis a 37°C durante 18-24 horas, las colonias con características morfológicas y tintoriales compatibles con el género *Staphylococcus* se procedieron a clasificar realizándoseles el estudio bioquímico correspondiente según (NRAG-1010/89 y NC ISO 6888-1:2003).

Resultados y discusión

El conocimiento de flujo tecnológico en cualquier proceso productivo es de vital importancia; en el se describen y detallan todas las acciones a cumplimentar para lograr el buen funcionamiento de una empresa, industria, unidad de producción, etc; la figura 1 nos muestra el flujo tecnológico del Centro de Elaboración 5 de Marzo, el mismo se divide en 12 etapas:



Figura 1. Diagrama del Flujo Operacional Centro de Elaboración 5 de Marzo
Fuente: Entrevista abierta y comprobación *in situ*

De ellas depende el proceso de producción continua que se lleva a cabo en esta mini industria de procesamiento de alimentos de origen animal con destino humano. El diagrama de flujo se confeccionó siguiendo lo establecido en la NC ISO 22000:2005 y al tipo de alimento que se elabora, siendo sometido a la verificación *in situ* para comprobar su funcionabilidad a partir de los criterios propuestos por Caballero *et al.*, (1997).

Se determinaron los riesgos biológicos, químicos y físicos presentes en el flujo tecnológico, de un total de 12 etapas con que cuenta el mismo en solo 7 se evidenciaron algún tipo de riesgo, según se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Determinación de Puntos Críticos de Control del Centro de Elaboración de la Granja Integral Agropecuaria 5 de Marzo

Paso del proceso	Riesgo a la inocuidad del alimento	Posibilidades reales de presentación	Fundamento	Medidas de prevención, eliminación o reducción	PCC
Recepción de la Materia Prima	Riesgo Biológico: <i>Salmonella</i> <i>Escherichia coli</i> O157:H7 y <i>Staphylococcus aureus</i>	Sí	Pueden estar presentes en el producto recepcionado	Exigir certificación de calidad del producto a los proveedores Inspección visual <i>In situ</i>	1
	Riesgo Químico: Residuos de antibióticos	Sí			
	Riesgo Físico: Materiales extraños	No	Registros del centro sin reportes de materiales extraños		
Molinaje	Riesgo Biológico: Ninguno	No	No	Buenas Prácticas de Manufactura	No
	Riesgo Químico: Residuos químicos	Sí	Pueden estar presentes después de la limpieza de equipos	Procedimientos Operacionales de Limpieza y Desinfección	
	Riesgo Físico: Contaminación con metales	Sí	Registros que muestren la ocurrencia de contaminación con metales	Mantenimiento de cuchillas del molino Detector de metales Inspección <i>In situ</i>	
Mezcladora	Riesgo Biológico: Ninguno	No	No	Buenas Prácticas de Manufactura	No
	Riesgo Químico: Residuos químicos	Sí	Pueden estar presentes después de la limpieza de equipos	Procedimientos Operacionales de Limpieza y Desinfección	
	Riesgo Físico: Contaminación con metales	Sí	Registros que muestren la ocurrencia de contaminación con metales	Mantenimiento de placas del molino Detector de metales Inspección <i>In situ</i>	

Tabla 1. Determinación de Puntos Críticos de Control del Centro de Elaboración de la Granja Integral Agropecuaria 5 de Marzo (Continuación)

Paso del proceso	Riesgo a la inocuidad del alimento	Posibilidades reales de presentación	Fundamento	Medidas de prevención, eliminación o reducción	PCC
Molinaje con extensores	Riesgo Biológico: <i>Salmonella</i> y <i>Escherichia coli</i> O157:H7 y <i>Staphylococcus aureus</i>	Sí	Pueden estar presentes en los extensores recepcionados	Exigir certificación de calidad del producto a los proveedores Buenas Prácticas de Manufactura	No
	Riesgo Químico: Residuos químicos	Sí	Pueden estar presentes después de la limpieza de equipos	Procedimientos Operacionales de Limpieza y Desinfección	
	Riesgo Físico: Contaminación con metales	Sí	Registros que muestren la ocurrencia de contaminación con metales	Mantenimiento de cuchillas del molino. Detector de metales <i>Inspección In situ</i>	
Horno	Riesgo Biológico: Supervivencia de Patógenos	Sí	Tiempo y temperatura incorrectos	Buenas Prácticas de Manufactura	2
	Riesgo Químico: Residuos químicos	Sí	Excesos en el proceso de curado	Control de tiempo y temperatura	
	Riesgo Físico: Ninguno	No	No	Verificación e <i>inspección In situ</i>	
Bodega de Reposo	Riesgo Biológico: Supervivencia de Patógenos	Sí	Tiempo y temperatura incorrectos	Buenas Prácticas de Manufactura	No
	Riesgo Químico: Ninguno	No	No	Control de tiempo y temperatura	
	Riesgo Físico: Ninguno	No	No	Verificación e <i>inspección In situ</i>	
Refrigeración	Riesgo Biológico: <i>Salmonella</i> <i>Escherichia coli</i> O157:H7 y <i>Staphylococcus aureus</i>	Sí	Temperatura insuficiente que permita el crecimiento de patógenos	Buenas Prácticas de Manufactura	3
	Riesgo Químico: Ninguno	No	No	Mantenimiento de temperatura adecuada	
	Riesgo Físico: Ninguno	No	No	<i>Inspección In situ</i>	

Fuente. Entrevista abierta y comprobación *in situ*

Los riesgos biológicos, químicos y físicos fueron simbolizados y llevados al diagrama de flujo del proceso tecnológico según lo establece la NC 136:2002 y su ubicación se muestra en la figura 2.

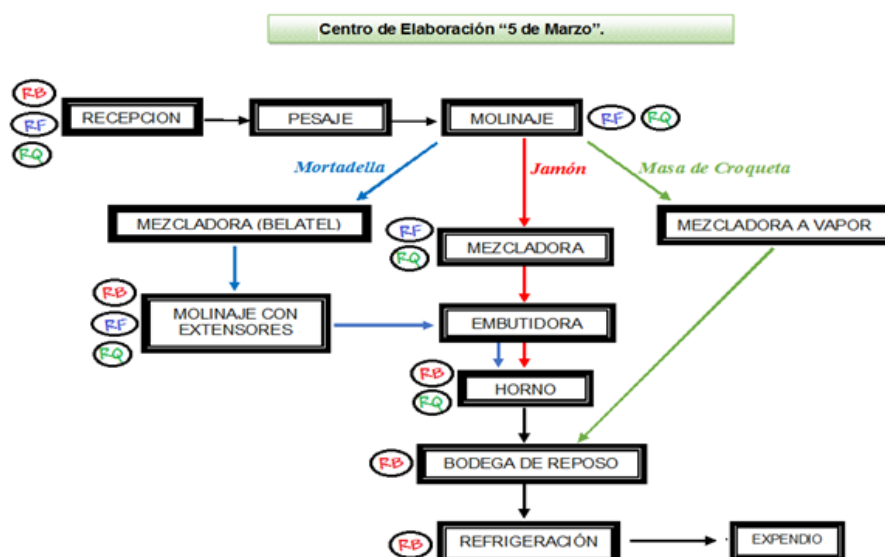


Figura 2. Etapas del Flujo Operacional Centro de Elaboración de la Granja Integral Agropecuaria 5 de Marzo donde se identificaron riesgos biológicos, químicos

Fuente: Entrevista abierta y comprobación *in situ*

Siguiendo el árbol de decisiones fueron determinados los puntos críticos del control del flujo tecnológico, estos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Determinación de Puntos Críticos de Control del Centro de Elaboración de la Granja Integral Agropecuaria 5 de Marzo

Nro	Etapa	Respuestas al árbol de decisiones				PCC
		P1	P2	P3	P4	
1	Recepción	Sí	Sí	-	-	Sí
2	Pesaje	No	-	-	-	No
3	Molinaje	Sí	No	No	-	No
4	Mezcladora (Belatel)	Sí	No	Sí	Sí	No
5	Mezcladora	Sí	No	Sí	Sí	No
6	Mezcladora a Vapor	Sí	No	-	-	No
7	Molinaje con extensores	Sí	No	Sí	Sí	No
8	Embutidora	No	-	-	-	No
9	Horno	Sí	Sí	-	-	Sí
10	Bodega de reposo	No	-	-	-	No
11	Refrigeración	Sí	Sí	-	-	Sí
12	Expendio al MININT	No	-	-	-	No
Preguntas del árbol de decisiones						
P1	¿Existen medidas preventivas de control?					
P2	¿Ha sido la fase específicamente concebida para eliminar o reducir a un nivel aceptable la posible presencia de un peligro?					
P3	Podría producirse una contaminación con peligros identificados superior a los niveles aceptables, o podrían estos aumentar a niveles inaceptables?					
P4	¿Se eliminarán los peligros identificados o se reducirá su posible presencia posterior?					

Fuente. NC 136:2002, Entrevista abierta y comprobación *in situ*

El examen minucioso realizado a la cadena de producción y la aplicación del árbol de decisiones en cada una de las etapas siguiendo lo establecido en la NC 136:2002 permitió establecer 3 Puntos Críticos de Control dentro de los que se encuentran la recepción de materias primas, el

horno donde se realiza la cocción y finalmente la refrigeración del producto ya elaborado; los mismos fueron identificados mediante un símbolo y llevados para una mejor comprensión hacia el diagrama de flujo del proceso tecnológico, según se muestra en la figura 2.

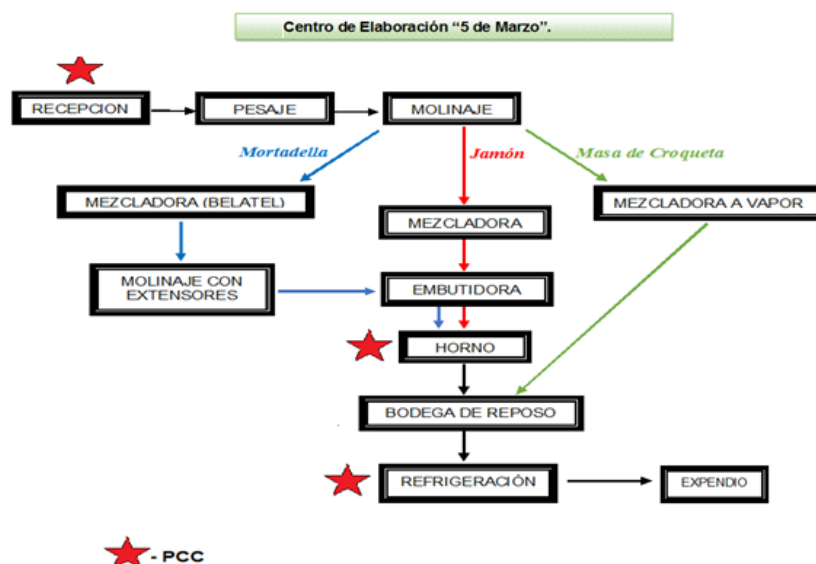


Figura 2. Puntos Críticos de Control establecidos en el Flujo Operacional Centro de Elaboración de la Granja Integral Agropecuaria 5 de Marzo

Fuente: NC 136:2002, Entrevista abierta y comprobación *in situ*

El primer punto crítico establecido en nuestro trabajo fue la recepción de materias primas e ingredientes, en esta fase tiene lugar la admisión de los diferentes componentes que van a constituir el producto final, desde la materia prima cárnica, los condimentos, especias y aditivos que se emplean en el proceso. Se incluye en esta fase el suministro de agua, que debe ser potable para permitir su empleo en la elaboración de los productos, y en la limpieza general de las instalaciones según establece la NC 827:2010. En el caso del suministro de agua, el riesgo es que suponga una vía de contaminación para las materias primas, instalaciones, útiles, equipos o productos terminados.

La homologación de los proveedores es una de las medidas preventivas a tener presente ya que esto obliga a los suministradores a garantizar a través de certificados sanitarios las materias primas que sean adquiridas, (Blanch, 2013), en este caso las materias primas a base de carne de cerdo y carne de res provienen del matadero contiguo a la unidad que sacrifica animales de la propia granja, en el caso de los extensores (picadillo de pollo MDM), condimentos y aditivos estos son importados y provienen de diferentes proveedores.

Las materias primas e ingredientes nunca deben rebasar el límite crítico ya que estas tienen que cumplir las normas microbiológicas establecidas por la legislación según las NC ISO 6888-1:2003, NC 605:2008 y NC ISO 7251:2011 y en el caso del agua esta debe encontrarse dentro de los rangos establecidos de potabilidad según se recoge en la norma NC 827:2010.

El monitoreo a esta actividad y la frecuencia con la cual se ha de realizar será siempre en el momento de la recepción de cada lote, verificándose mediante inspección visual que las

condiciones higiénicas y de estiba han sido las adecuadas y que no se han transportado productos incompatibles. En el caso de las materias primas cárnicas, se procederá a realizar una inspección organoléptica que permita asegurar la frescura de las mismas, y un control de la temperatura (cuando sea necesario).

La cocción de las materias primas en su conjunto para la conformación final del producto constituye según publicaciones periódicas de la OPS (2013), una de las fases más complejas y por tanto un punto crítico de control, debido al empleo inadecuado de la temperatura que pueden coadyuvar a la multiplicación de los microorganismos, al quedar estos con vida encerrados en oquedades del producto. En el centro de elaboración analizado este parámetro se mantiene controlado y es verificado constantemente para detectar posibles desviaciones de temperatura.

En la tabla 3 se exponen los resultados microbiológicos obtenidos de las muestras trabajadas durante el estudio, resulta curioso expresar que en ningún caso se pudo determinar la presencia de *Salmonella* sp, *Escherichia coli* O157:H7 y *Staphylococcus aureus*, aunque consideramos que el tamaño de la muestra no es representativa, si nos indica que los productos que se elaboran en el centro cumplen con la calidad higiénico sanitaria para ser destinados al consumo animal; estos resultados coinciden con los obtenidos por el Centro Provincial de Epizootiología y Diagnósticos Veterinarios de Villa Clara a partir de los envíos frecuentes que se realizan por parte del control sanitario para su investigación, situación está que difiere con la de otros centros elaboradores de alimentos en los cuales si se han detectado este tipo de patógenos. En el caso de *Escherichia coli* O157:H7 se cuentan con muy pocos registros de la presencia de este patógeno en los alimentos a nivel internacional y de país, según *Reuben et al, (2003)* esto se debe a que los métodos de detección no son usados ampliamente y en algunos casos resultan económicamente poco viables, lo que hace que este serotipo sea poco investigado, existiendo un sub-registro importante en cuanto a su asociación con patología en humanos.

Tabla 3. Resultados de las determinaciones microbiológicas realizadas a productos elaborados, materias primas y extensores del Centro de Elaboración de la Granja Integral Agropecuaria 5 de Marzo

Centro de Elaboración de la Granja Integral Agropecuaria S de marzo				
Tipos de muestras	Lote	Determinaciones		
		Salmonella sp	Escherichia coli O157:H7	Staphylococcus aureus
Productos Elaborados				
Chorizo	1	N/D	N/D	N/D
	2	N/D	N/D	N/D
Jamón	1	N/D	N/D	N/D
	2	N/D	N/D	N/D
Butifarra	1	N/D	N/D	N/D
	2	N/D	N/D	N/D
Salame	1	N/D	N/D	N/D
	2	N/D	N/D	N/D
Mortadella	1	N/D	N/D	N/D
	2	N/D	N/D	N/D
Masa de croqueta	1	N/D	N/D	N/D
	2	N/D	N/D	N/D
Materias Primas				
Carne de cerdo	1	N/D	N/D	N/D
	2	N/D	N/D	N/D
Carne de res	1	N/D	N/D	N/D
	2	N/D	N/D	N/D
Extensores				
Picadillo de pollo (MDM)	1	N/D	N/D	N/D
	2	N/D	N/D	N/D
N/D No determinado				

En Cuba se han realizado pocos estudios sobre este tema, los primeros datan de la década de los 80 y principios de los 90, en trabajos realizados por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Pediátrico “Juan Manuel Márquez”, aislándose de heces fecales de niños con síndromes diarreicos agudos y estudiándose marcadores fisiológicos y factores de virulencia, en ninguno de los casos se pudo determinar el vehículo que dio origen a la infección en los pacientes afectados o los alimentos implicados en la misma. Se debe destacar que las pesquisas para conocer su presencia en los alimentos (sus principales vehículos de transmisión), se comenzó a realizar en el año 2000, tras una investigación llevada a cabo por el Centro Nacional de Higiene de los Alimentos del Instituto de Medicina Veterinaria con la colaboración del Laboratorio de Referencia de Enfermedades Diarreicas Agudas del Instituto “Pedro Kouri” en donde se aisló *Escherichia coli* O157:H7 por primera vez a partir de muestras de alimentos nacionales (Bonachea, 2003).

Por su parte Stampi *et al*, (2004) reportaron la presencia de este patógeno en carnes crudas, carnes molidas y hamburguesas de plantas procesadoras en Italia, representando un 30,2% de positividad de un total de 149 muestras, resultados con los cuales no coincidimos.

Aportela & Bonachea, (2005) obtuvieron un 1,8% de positividad en estudios realizados para determinar la presencia de este patógeno emergente en los alimentos obteniendo los primeros resultados en nuestro país en el año 2005 obteniendo 3 aislados en carne de bovino molida y fresca, de un total de 166 muestras procedentes de mataderos de 3 provincias de Cuba (Camagüey, Sancti Spiritus y Villa Clara), no reportando aislados en embutidos y ahumados.

Cárdenas *et al*, (2011) reportaron en la provincia de Villa Clara en el período comprendido entre los años 2005-2007 un total de 104 aislados de *Salmonellas*, de ellas 34 provenían de carne fresca, 14 de picadillo, 5 de masa de hamburguesas y hamburguesa y 6 de jamón, el resto fue recuperado a partir de muestras de pienso. Esto demuestra que estos agentes son contaminantes frecuentes de los alimentos siendo causantes de las enfermedades diarreicas agudas. En el estudio realizado a materias primas y productos terminados estos patógenos no fueron encontrados, coincidiendo con los resultados emitidos por el Centro Provincial de Epizootiología y Diagnósticos Veterinarios de Villa Clara a los muestreos periódicos realizados por los especialistas de control sanitario del IMV. Por su parte el diagnóstico de *Staphylococcus aureus* en alimentos en casi nulo en toda la red diagnóstica del país, e internacionalmente no se conocen reportes de interés, según estudios realizados por el Instituto de Salud Pública de Chile entre los años 2011 y 2012 se reporta el aislamiento de 253 cepas de *Staphylococcus aureus* recuperadas de 129 muestras de alimentos, y de ellas 116 provenían intoxicación alimentaria (Boletín del Instituto de Salud Pública, 2013), en nuestra investigación este tipo de agente no fue identificado.

Conclusiones

- Se determinaron los riesgos biológicos, químicos y físicos en 7 de las 12 etapas que conforman el flujo tecnológico, identificándose entre ellos la supervivencia de patógenos, la presencia de residuos químicos y la contaminación con metales.
- La recepción de las materias primas, la cocción en el horno y el almacenamiento de los productos elaborados, fueron las 3 etapas del proceso tecnológico que se identificaron como Puntos Críticos de Control.
- No se diagnosticó la presencia de *Escherichia coli*, O157:H7, *Salmonella* spp y *Satphylococcus aureus* en materias primas y productos terminados

Referencias

1. Aportela A, Neibys D, Bonachea S. Aislamiento e identificación de *Escherichia coli* O157 en carne bovina. [Trabajo de tesis]. Laboratorio Nacional IMV, Cuba, 2005.
2. Blanch, J. (2013). Calidad y seguridad en la industria alimentaria. Homologación de proveedores según las normas ISO, BRC e IFS <http://calidadindustriaalimentaria.blogspot.com/>
3. Bonachea, H. 2003. Aislamiento e identificación de *Escherichia coli* O157:H7 en alimentos. Tesis para optar por el Título de Master en Bacteriología-Micología. IPK, Ciudad de la Habana, 2003.
4. Caballero, A.; Lengomín, María, E.; Grillo, M.; Arcia, J.; León, M.A. 1997. Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control en la inspección sanitaria de los alimentos. Rev. Cubana Aliment Nutr. 11(2):126-136
5. Cárdenas, R.V.; Hernández, D.M.; Muñoz, G.Z.; Correa, M.Y.; Aguilera, V.D. & Bueno, S.M. Serogrupos de *Salmonellas* aisladas en alimentos en un período de tres años (2005-2007) . VII congreso de Ciencias Veterinarias, La Habana. Cuba.
6. NC 136: 2002 Sistema de Analisis y peligros de Puntos Criticos de control (HACCP) y directrices para su aplicación.
7. NC 559:2007 Directrices generales sobre el muestreo de alimentos
8. NC 605: 2008 Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal. Guia general para la dectección de salmonella. Método de rutina.
9. NC 827:2010. Agua potable. Requisitos sanitarios.
10. NRAG-1009/89: Siembra Bacteriológica. Diagnóstico Veterinario. Métodos de ensayo.
11. Quevedo F. Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en 2011 [en línea]. Argentina; 21 febrero 2011 [Consulta: 21 marzo 2014]. Disponible en: www.cisan.org.ar/articulo_ampliado.php?id=173&hash=ba844db1cadff8ae52fa6d1c07de5019.

12. Reuben, A.; Treminio, H., Arias, M.L. & Chaves, C. 2003. Presencia de *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. en alimentos de origen animal en Costa Rica. Rev. ALAN-VE. Vol3 Nro 4
13. Stampi, S.; Caprioli, A.; De Luca, G.; Quaglia, P.; Sacchetti, R.& Zaretti, F. 2004 Detection of *Escherichia coli* O157 in bovine meat products in northern Italy. Int J Food Microbiol. 1;90(3):257-62.