

# APLICACIÓN DE BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA Y DETERMINACIÓN DE AGENTES CONTAMINANTES EN HAMBURGUESAS EXPENDIDAS EN SALTA (ARGENTINA)

Andrea Paula Cravero, Adriana Noemí Ramón, Bruno Bocanera, Marta Beatriz Giménez y Carolina Gabriela Ruiz Alvarez.

Consejo de Investigación, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta, República Argentina

E-mail: [andicravero@hotmail.com](mailto:andicravero@hotmail.com); [ramon@unsa.edu.ar](mailto:ramon@unsa.edu.ar)



## Introducción

Asegurar la calidad bromatológica y nutricional de los alimentos que se ofertan al consumidor, no es una tarea sencilla de concretar. Los emparedados de carne son medios de cultivo ideales para el desarrollo de microorganismos patógenos causantes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA). Los factores que contribuyen a los brotes de ETA son la refrigeración inadecuada, la falta de higiene en la manipulación e incorrecto recalentamiento de comidas preparadas, entre otros (1, 2, 3), los cuales son considerados dentro de las Buenas prácticas de Manufactura (BPM).

Las BPM, constituyen un “conjunto de procedimientos, herramientas o actividades que se llevan a cabo para asegurar la calidad e inocuidad de los alimentos” (4) desde su producción hasta su venta. Fueron implementadas por primera vez en los Estados Unidos en 1969, recomendadas luego por el Codex Alimentarius y contempladas también en el Reglamento Técnico del MERCOSUR (Resolución GMC MERCOSUR N° 80/96).

La aplicación de las mismas en los locales elaboradores o expendedores de alimentos, en especial puestos, ferias y carros en la vía pública de países subdesarrollados, es todavía un tema por analizar, ya que la mayoría de ellos, no las cumplen o lo hacen de manera insatisfactoria (5).

Las hamburguesas son consumidas por niños, adolescentes y adultos en forma masiva, siguiendo una moda de la que “nadie puede escapar”, atrapados por un “mundo de sabores”, con regalos sorpresas, cajitas felices y publicidad desmedida acerca de las propiedades de un alimento “rico, sano y económico” pero que en realidad puede resultar peligroso desde el punto de vista de la salud.

Los límites microbiológicos permitidos para el consumo de este tipo de producto son: Recuento de Aerobios Mesófilos  $10^5$  UFC/g; Coliformes, Enterobacterias, *S.aureus*  $10^2$  UFC/g y *E.coli* (157: H7) negativa (6) respectivamente.

*E. coli* manifiesta distintas características de patogenicidad, síndrome clínico y epidemiología según la clase a la que pertenece. Una de las más temibles es *E.coli* (157: H7) o *enterohemorrágica* por ser la causante del Síndrome Urémico Hemolítico o Colitis Hemorrágica, conocida también como “el mal de las hamburguesas”. Dicha entidad afecta principalmente a niños menores de 2 años por el consumo de carnes mal cocidas, leches o aguas contaminadas y transmisión de persona a persona. Sin embargo, el resto de la población también queda expuesta ante esta temible enfermedad que en Argentina, es endémica siendo su incidencia la más alta del mundo ya que se registran entre 300 y 350 casos nuevos por año.

La carne picada se debe cocinar a temperaturas superiores a 70 °C para destruir esta bacteria debido a que en este tipo de producto, se cuece la parte superficial permaneciendo cruda en su interior que es donde se aloja el germen. Las hamburguesas son la fuente principal de contaminación en los niños.

Por otra parte, si el almacenamiento y envasado de los emparedados son inapropiados, permiten la autooxidación de grasa por exposición a temperaturas, aire y luz originando compuestos químicos (peróxidos y malonaldehído) que producen pérdida del valor nutritivo, desarrollo de sabores u olores extraños y en el

organismo, deterioro de lípidos tisulares, inactivación de enzimas, destrucción de membranas e inhibición de síntesis de prostaglandinas que aumentan la coagulación de la sangre en el proceso de aterogénesis, aún en bajas concentraciones, lo que constituyen un enorme peligro para la salud humana (7, 8, 9).

Los peróxidos son derivados por el ataque del oxígeno sobre determinados componentes de los alimentos generando radicales libres que dan cuenta de vitaminas liposolubles y reaccionan con uniones sulfhidrilo de las proteínas, disminuyendo así el contenido de aminoácidos azufrados. También se acelera la velocidad de "turnover" de vitamina "E" en el organismo, lo que acrecienta sus requerimientos (10). El límite máximo permitido de peróxidos en los alimentos para el consumo, según el Código Alimentario Argentino (CAA), es de 10 mEq de O<sub>2</sub>/ Kg. de grasa (11).

Por su lado, el MDA es un dialdehído volátil formado por descomposición de hidroperóxidos, aldehídos y otros derivados carbonílicos (12, 13). La susceptibilidad de las heterogéneas grasas a la rancidez oxidativa varía según el nivel de instauración de los ácidos grasos, existencia de metales como el hierro o cobre, y la presencia y disponibilidad de antioxidantes (14). Los factores que apresuran la oxidación son entre otros la luz, temperatura, absorción de oxígeno y algunos envases que intervienen sobre la estabilidad de las grasas (15, 16). Los efectos del consumo de grasas rancias conllevan manifestaciones como van desde diarreas, arteriosclerosis e hipertrofia del hígado, entre otros aspectos (17).

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de agentes contaminantes biológicos y tóxicos (microorganismos patógenos y productos derivados de oxidación de grasas), a fin de evaluar su interrelación con la aplicación o no de BPM (prácticas de elaboración, almacenamiento y venta) de emparedados de carne molida y moldeada (hamburguesas), vegetales, huevo y aderezos como fuente de peligro potencial para la salud de los consumidores.

### **Material y Métodos**

Se seleccionaron al azar 25 locales de elaboración y venta de hamburguesas habilitados por el Ente Regulador Oficial de Alimentos de la Provincia de Salta, República Argentina, en los que se realizaron encuestas por entrevista estructurada a través de un formulario impreso con preguntas abiertas y cerradas acerca del emplazamiento, estructura edilicia e higiene de la planta física, higiene y hábitos del personal en diferentes etapas de procesamiento (elaboración, almacenamiento y venta). También se observaron otras variables relacionadas a las BPM como la contaminación cruzada, el uniforme o indumentaria de trabajo y conductas laborales de los operarios. Se trabajó con 25 muestras de emparedados compuestas por: pan tipo viena, tomate en rodajas finas, lechuga, aderezos (mayonesa y Ketchup), carne picada y moldeada (hamburguesa) y huevo (frito). Las mismas fueron tomadas en el lugar de expendio de las manos del vendedor (bajo las mismas condiciones de venta al público) en bolsas de polietileno estériles, rotuladas y refrigeradas ( $4 \pm 2$  °C) hasta su procesamiento. Se pesaron y tomaron 30 g para su homogeneización en Multiprocesador Moulinex AV4, y se suspendieron en 120 ml de solución fisiológica estéril durante 1 hora  $\pm$  30 minutos, para luego realizar las diluciones correspondientes a fin de realizar los análisis microbiológicos. Éstos últimos se llevaron a cabo en cuarto de siembra, con luz ultravioleta y fueron los siguientes:

- *Recuento Total de Aerobios Mesófilos* (Recuento Estándar en Placa, Agar nutritivo;  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$  a  $37^{\circ}\text{C}/24$  Hs);
- *Coliformes* (Lactosa Bilis Verde Brillante al  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  a  $42^{\circ}\text{C}/24$  Hs);
- *Enterobacterias* (Mc Conkey,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  a  $37^{\circ}\text{C}/24$  Hs);
- *Staphylococcus aureus* (Manitol Salado,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  a  $37^{\circ}\text{C}/48$  Hs)
- *Escherichia coli* (O157: H7): Pruebas IMViC (18).

En laboratorio de alimentos se realizó la extracción de grasa por Método Directo con Solventes (Éter de Petróleo) según AOAC (19) y posterior valoración del contenido porcentual de grasa por diferencia; Índice de Peróxidos, para lo cual se pesaron  $1 \pm 0,005$  g de grasa y diluyeron con solvente (Ácido Acético Glacial / Cloroformo 2 / 1) e Ioduro de Potasio Saturado para su posterior titulación con Tiosulfato de Sodio 0,01N según AOAC (20); y Malonilaldehído (MDA) mediante la prueba del Ácido Tiobarbitúrico (ATB) (21), para valorar el deterioro oxidativo de las grasas (rancidez) y formación de compuestos tóxicos secundarios respectivamente.

El análisis estadístico se realizó mediante pruebas no Paramétricas: Rho de Spearman con el programa estadístico SPSS versión 7.0. (22).

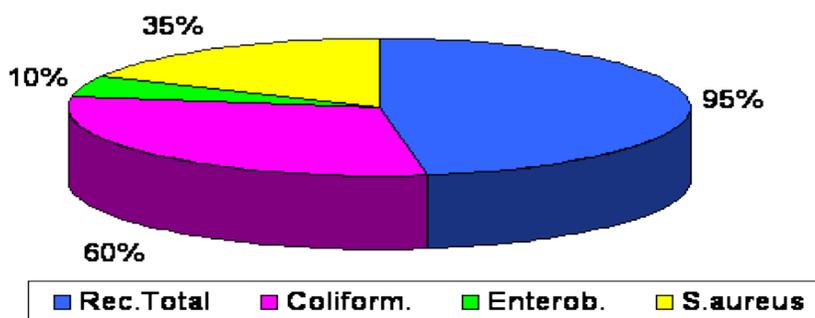
## Resultados

El 80% de los locales disponían de energía eléctrica, agua potable, gas natural, cloacas. Todos los puestos de venta estaban situados sobre calles transitadas con una alta tasa de polución y smog dada por el tránsito vehicular y por ende, expuestos a contaminantes físicos como humo, gases y olores desagradables. El 60% contaban con instalaciones y equipamiento (sectores de elaboración, venta, almacenamiento y baños) en buenas condiciones de construcción y mantenimiento según normas vigentes en lo que respecta a planta física. Sin embargo, entre el 56 al 68 % cumplimentaban con las mínimas condiciones de higiene en todos los sectores de la fábrica: el 52 % no contaba con un programa de saneamiento adecuado ni organizado y el 20 % no desinfectaba según lo exigido por organismos competentes. Así también se observó que el 32% utilizaba insumos de limpieza de marcas no reconocidas, o que no poseían etiquetado correspondiente o se encontraban almacenados junto a víveres secos (despensa), lo cual no está permitido por las BPM debido a la gran posibilidad de contaminación cruzada entre sustancias químicas volátiles o por derrames (detergente, hipoclorito de sodio, etc) hacia los alimentos de manera accidental o intencional.

Con respecto al personal, el 40 % de los operarios no vestía uniforme completo ni limpio (delantal o mandil, gorro o cofia, ni zapatos de uso exclusivo para el trabajo). Se observaron hábitos indeseables como toser, mascar gomas, fumar, rascarse la cabeza, tocarse la nariz, pelos u ojos en el 88 % de los casos. El 56% no contaba con libreta sanitaria ni certificado de buena salud expedido por el médico. Tampoco credencial habilitante o controles de salud al menos una vez al año como lo exige la ley. El 80% sin cursos de capacitación en el área de BPM, pero con estudios de nivel secundario, lo que indica que la escolaridad es adecuada para entender muy bien los contenidos referentes a las mismas. Las conductas de trabajo fueron regulares en el 40 % de los operarios observados. Se pudieron constatar visitas inoportunas de familiares o amigos en horas de trabajo en el 65 % de las fábricas, lo que constituye un factor de distracción para el manipulador de alimentos. La contaminación cruzada fue observada en el 90 % de los locales comerciales por el uso recipientes únicos para procesar diversos ingredientes como vegetales y pan o éste y otros productos.

El 80% de los emparedados de hamburguesa estaba contaminado, y de éstos, el 95% presentó *Recuento Total* positivo con valores que oscilaron entre  $10^3$  a  $10^7$  UFC/g. 60% con *Coliformes* ( $10^2$  a  $8 \times 10^5$  UFC/g), 10% con *Enterobacterias* ( $10^3$  a  $6 \times 10^3$  UFC/g) y 35% con *Staphylococcus aureus* ( $3 \times 10^2$  a  $10^4$  UFC/g) excediendo los límites permitidos para su consumo, según las normas vigentes para estos productos y tipo de patógenos encontrados (Ver Figura 1).

Figura 1: Porcentaje de muestras contaminadas con microorganismos



*E. coli* (157: H7) negativa en todas las muestras. Para constatar su presencia se realizaron las pruebas sobre aquellas muestras que presentaron enterobacterias y coliformes positivos. En laboratorio de alimentos, se obtuvo que el 20% de los emparedados presentaron un contenido graso superior a 15 g (entre 16,017 a 20,008 g cada 100g de alimento) y por ende valores de IP mayores a 10 mEqO<sub>2</sub>/ Kg de grasa (10,44 a 14,53). El 92 % presentaron un contenido de MDA inferior a 0,5 (0,154 a 0,451), pero superando lo permitido por el CAA para el consumo. Del análisis estadístico de los datos se halló correlación altamente significativa entre análisis microbiológicos y libreta sanitaria ( $r^2 = 0,813$ ), cursos de capacitación ( $r^2 = 0,813$ ), conductas de trabajo de los operarios ( $r^2 = 0,759$ ) y contaminación cruzada ( $r^2 = 0,685$ ).

## Discusión

La aplicación de BPM en los locales de elaboración y venta de emparedados de hamburguesas o hamburgueserías es insuficiente. Si bien, algunos cumplieron las normas, todavía falta mucho camino por recorrer. La correcta implementación de BPM requiere de la colaboración de todos los operarios o manipuladores de alimentos como así también de los empresarios, industriales o expendedores de materias primas. La multiplicación, supervivencia, desarrollo o inactivación microbianas están influenciados por factores relacionados con el mal manejo de alimentos (higiene y/o temperatura inapropiadas) y con la falta de capacitación al personal lo que interfiere en la calidad e inocuidad de los productos terminados, poniendo en grave peligro a la población consumidora, lo que en última instancia, podría prevenirse con la adecuada aplicación de BPM, algo sumamente económico pero efectivo para paliar grandes males.

Los microorganismos encontrados están vinculados a contaminación de origen fecal (*Enterobacterias*) y a un incorrecto procesamiento durante las etapas de preparación, elaboración y almacenamiento. El Recuento Total de Aerobios Mesófilos es indicador de tratamiento deficiente y menor tiempo de vida útil del producto. Es importante destacar la negatividad de las muestras frente a *E. coli*, bacteria tan difundida en el medio y tan relacionada a las malas prácticas higiénicas, responsable de diarreas leves como la famosa "diarrea del viajero" a entidades mortales como el Síndrome Úrémico Hemolítico, del cual ya se habló en párrafos anteriores.

Cabe destacar que el almacenamiento prolongado a temperaturas inadecuadas podría contribuir no sólo al desarrollo de flora contaminante sino también a la formación de compuestos de oxidación (Peróxidos y MDA) tal como lo demuestran los resultados de los análisis expuestos anteriormente, los que también pueden relacionarse con la composición química (grasa) de los emparedados tanto de la materia prima como de la cocción (sucesivos calentamientos-enfriamientos). Todo esto contribuye en gran medida a poner en riesgo a la población consumidora frente a productos que en apariencia resultan nutritivos, sanos y apetitosos pero que en realidad esconden verdaderos peligros para contraer enfermedades de diversa etiología infecciosa, tóxica o con residuos de alto poder acumulativo en el organismo.

## Resumen

El objetivo fue determinar agentes contaminantes (microorganismos patógenos y oxidación lipídica) en hamburguesas expandidas en la ciudad de Salta, República Argentina. Se observó planta física, condiciones higiénicas de instalaciones, equipos y personal en 25 establecimientos habilitados (al azar). Se tomaron 25 muestras de emparedados de hamburguesas (pan, carne picada y moldeada, huevo, tomate, lechuga y aderezos) en bolsas estériles. Se realizó: Recuento Total de Aerobios Mesófilos, Coliformes, *Enterobacterias*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (O157: H7) e Índice de Peróxidos (IP) y Malonaldehído (MDA). Estadísticamente se realizaron pruebas no paramétricas (Rho de Spearman); Programa SPSS 7.0. El 60% de los locales presentaban instalaciones, equipos y baños en buenas condiciones según normas vigentes (80/96 Reglamento MERCOSUR). Entre el 56 al 68% tenían mínimas condiciones de higiene en todos los sectores de la fábrica: 52% no contaba con programa de saneamiento o desinfección según lo exigido por organismos competentes. El 40% del personal no vestían uniforme completo ni limpio; el 56% sin libreta sanitaria y el 80% sin cursos de capacitación en BPM. Los hábitos indeseables fueron observados en el 88% de los casos, con conductas de trabajo regulares (40%) y contaminación cruzada (90%). Recuento Total Positivo 95% de las muestras ( $10^3$  a  $10^7$  UFC/g); 60% con *Coliformes* ( $10^2$  a  $8 \times 10^5$  UFC/g), 10% con *Enterobacterias* ( $10^3$  a  $6 \times 10^3$  UFC/g) y 35% con *Staphylococcus aureus* ( $3 \times 10^2$  a  $10^4$  UFC/g) excediendo límites permitidos para consumo. *E. coli* negativa (100%). El 20% con IP mayor a  $10 \text{mEqO}_2 / \text{Kg}$  (10,44 a 14,53); el 92% con contenido de MDA inferior a 0,5 (0,154 a 0,451). Correlación altamente significativa entre análisis microbiológicos y libreta sanitaria, cursos de capacitación, conductas y contaminación cruzada. La aplicación de BPM fue insuficiente, lo cual se refleja en la calidad higiénico sanitaria de los productos analizados ya que recuentos elevados indican materias primas contaminadas, tratamientos no satisfactorios y condiciones inadecuadas de almacenamiento. Peróxidos y MDA excedieron los límites permitidos constituyendo peligros potenciales para la salud de los consumidores.

*Palabras Clave:* hamburguesas, microorganismos patógenos, Índice de Peróxidos, Malonaldehído, *E. coli*.

## Abstract

The objective was to determine **contaminating agents (pathogenic microorganisms and lipidic oxidation)** in hamburgers **sold at local restaurants** in Salta Capital city, Argentine Republic. Place of elaboration, hygienic

conditions of facilities, equipment and **staff** in 25 **authorized** establishments were observed (at random). 25 samples of hamburgers (bread, **beef**, egg, tomato, lettuce and seasonings) were taken in sterile bags. Total recount of *Aerobic Mesófilos*, *Coliformes*, *Enterobacterias*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* (O157:H7) and *Index of Peroxides (IP) and Malonilaldehyd (MDA)* was carried out. **Non parametric tests (Sperman RHO) were statistically used**; SPSS 7. 0. **programs**. 60% of the places **had** facilities, equipment and **restrooms in good conditions in accordance with present regulations (80/96 MERCOSUR Regulation)**. 56 to 68% **met** minimum conditions of hygiene in **every section** of the factory: 52% **lacked sanitation program or did not** disinfect **the place in accordance with present regulations**. 40% of the workers did **not** wear complete nor clean uniforms; 56% **lacked a** sanitary notebook and 80% **had never been trained in the basics of GMP**. Undesirable habits were observed in 88%, regular work behaviors (40%) and crossed contamination (90%). **Positive** Total Recount in 95% of the samples ( $10^3$  to  $10^7$  UFC/g); 60% with *Coliforms* ( $10^2$  to  $8 \times 10^5$  UFC/g), 10% with *Enterobacterias* ( $10^3$  to  $6 \times 10^3$  UFC/g) and 35% with *Staphylococcus aureus* ( $3 \times 10^2$  to  $10^4$  UFC/g) exceeding **the allowed limits for consumption**. *E. coli* negative (100%). 20% with IP at 10 (10,44 at 14,53); 92% with content of **lower** MDA at 0,5 (0,154 at 0,451). Highly significant correlation between **microbiologic tests and** sanitary notebook, training courses, behaviors and crossed contamination. The application of **GPM** was insufficient, reflected in the **sanitary-hygienic** quality of the products analyzed, **since a high recount** indicates **contaminated raw materials**, non satisfactory treatment and inadequate conditions of storage. Peroxides and MDA exceeded the allowed limits, **potentially hazardous the consumer**.

**Key Words :** *hamburgers, pathogenic microorganisms, Index of Peroxides, Malonilaldehyd, E. coli*

### **Agradecimientos**

Se agradece al Consejo de Investigación y personal de Laboratorios de Microbiología y Parasitología, en especial al Técnico Daniel P. Quipildor, como al Laboratorio de Alimentos (Bioterio) de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Salta. Así también muy especialmente a la Profesora Laura Moreno por la traducción de este manuscrito.

### **Referencias**

1. Delfino, R., S. Fanto y S. Delfino. 2000. Calidad Bromatológica y Nutricional en Alimentos. Editorial Delfino Consultores. 192 pp,
2. Windrantz, P. M.L. Arias 2000. Evaluation of the bacteriological quality of ice cream sold at San Jose, Costa Rica Archivos Latinoamericanos de Nutrición Vol 50(3): 301-303.
3. Rey, A. M. y A. A. Silvestre. 1999. Comer sin riesgos. Editorial Hemisferio Sur S.A. 199 pp
4. Ramón, AN., E. Vargas Ferra y A.P. Cravero 2005. Buenas prácticas de manufactura (BPM): Herramientas Útiles para los Manipuladores de Alimentos. 17 pp (MS)
5. Delfino, R. *et. al. Op. cit.*
6. Grupo de Alimentos de la Sociedad Española de Microbiología editores. 2004. Normas Microbiológicas Españolas. <http://veterinaria.unex.es/sem/normictb.htm>
7. Cheftel, JC y H Cheftel 1978. Introducción a la bioquímica y tecnología de los alimentos Ed. Acribia (España): 265-290 pp
8. Sánchez-Moreno González, C y JA Larrauri-García 1998. Principales métodos para la determinación de la oxidación lipídica. Food Sci. Tech. Int. Vol. 4, (6): 391-399
9. Vicario-Romero, IM 1993. El ensayo del ácido 2-tiobarbiturico (Atb) para medir la degradación autooxidativa de aceites vegetales comestibles. Tesis de Doctorado. Universidad de Sevilla (España)
10. *Idem.*

11. Código Alimentario Argentino. 2001. Training Tec.- IPSA (Eds) Córdoba, República Argentina
12. Nawar, W. W. 1993. Lípidos En [Fennema, O.R] Química de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Cap. III: 230-239.
13. Universidad Nacional de Salta 2001. Curso Desarrollo de Industrias de grasas y aceites Programa Doctorado del NOA. (Sep)
14. Del Cerro, S. 1989. Determinación de los niveles de colesterol sérico y alteraciones histológicas según la naturaleza y modificación de la grasa. Tesis Licenciatura en Nutrición. Fac. Cs. de la Salud. Universidad Nacional de Salta (Argentina). 80 pp
15. Universidad Nacional de Salta, *Op.cit.*
16. Del Cerro, S., *Op.cit.*
17. Vicario-Romero, IM, *Op.cit.*
18. International Commission On Microbiological Specifications For Food (I.C.M.S.F.) 1982. Microorganismos de los Alimentos. Ed. Acribia: 221-231.
19. American Oil Chemists Society 1986. Official and tentative Methods of the AOAC. 3ª ed. Vol 1 Champaign, Illinois: American Oil Chemists. Society.
20. *Idem.*
21. Vicario-Romero, IM, *Op.cit.*
22. SPSS. 1998. Programa Estadístico para las Ciencias Sociales. Windows, SPSS Inc., Chicago, Illinois.