

Comparación de tres métodos para la determinación de coliformes totales en canales de pollos provenientes de una planta beneficiadora en el estado Carabobo, Venezuela

Wilmarys Dos Ramos¹, Marily Freitas¹, María Gonçalves¹, Teresita Luigi S.^{1,2} ,
Noreldy Molina³, Legna Rojas^{4,5}

¹Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Bioanálisis. Carabobo, Venezuela. ²Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Ciencias Biomédicas, Centro de Investigaciones Microbiológicas Aplicadas (CIMA). Carabobo, Venezuela. ³Universidad de Carabobo, Facultad de Odontología, Departamento de Microbiología. Carabobo, Venezuela. ⁴Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas. Carabobo, Venezuela. ⁵Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias y Tecnología, Centro de Biotecnología Aplicada. Carabobo, Venezuela. Correo electrónico: teresitaluigi@hotmail.com

RESUMEN

Las bacterias coliformes son microorganismos indicadores de contaminación por enterobacterias, por tanto, revelan la presencia de patógenos intestinales cuando se utilizan en la evaluación de las condiciones sanitarias del procesamiento industrial y almacenamiento del pollo. Este estudio tuvo como objetivo comparar la eficiencia de tres métodos analíticos: número más probable (NMP), vertido en placa (VP) y Petrifilm™, para la detección de la contaminación microbiológica por coliformes totales en canales de pollos. Se recolectaron 80 canales de pollos grado “A”, siguiendo la metodología recomendada en las Normas COVENIN 1104, 1086, 2343 y 3276. Se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los métodos NMP y VP ($P = 0,0126$), pero no entre los métodos NMP y Petrifilm™ ($P = 0,6547$). El método Petrifilm™ resultó una técnica rápida, confiable y menos costosa, lo que constituye una alternativa para la sustitución de la metodología NMP en la determinación de coliformes totales en muestras de pollo. Independientemente del método utilizado, el porcentaje de aceptabilidad para coliformes totales fue bajo (entre 28,75 y 42,5 %), evidenciando una deficiente calidad sanitaria de las canales de pollo. La disponibilidad de metodologías analíticas rápidas y confiables facilitaría la liberación oportuna de los productos alimenticios con criterios microbiológicos que garanticen la inocuidad de los alimentos.

Palabras clave: aceptabilidad, contaminación de los alimentos, higiene de los alimentos, pollo de engorde, inocuidad alimentaria, análisis de los alimentos.

Comparison of three methods for the determination of total coliforms in chicken carcasses from a slaughterhouse in Carabobo state, Venezuela

ABSTRACT

Coliforms bacteria are indicator microorganisms of contamination by *Enterobacteriaceae*; therefore, they reveal the presence of intestinal pathogens when they are used in the evaluation of the sanitary conditions of industrial processing and storage of chicken. This study aimed to compare the efficiency of three analytical methods: most probable number (MPN), plaque pour (PP) and Petrifilm™, for the detection of microbiological contamination by total coliforms on chicken carcasses. A total of 80 grade “A” chicken carcasses were collected, following the methodology recommended in the COVENIN standards 1104, 1086, 2343 and 3276. Significant differences were observed ($P < 0.05$) between MPN and PP methods ($P = 0.0126$), but not between MPN and Petrifilm™ methods ($P = 0.6547$). The Petrifilm™ method was a fast, reliable and less expensive technique, which constitutes an alternative to replace the MPN methodology for determination of total coliforms in chicken carcasses. Regardless of the method used, the percentage of acceptability for total coliforms was low (between 28.75 and 42.5 %), evidencing a poor sanitary quality of the chicken carcasses. The availability of fast and reliable analytical methodologies would facilitate the timely release of food products with microbiological criteria that guarantee food safety.

Key words: acceptability, food contamination, food hygiene, broiler chickens, food safety, food analysis.

Recibido: 11/02/2019 - Aprobado: 20/09/2020

INTRODUCCIÓN

La carne de pollo es un alimento ampliamente consumido por la población y representa aproximadamente dos tercios de la producción total de carne alrededor del mundo en la actualidad (Albarri *et al.* 2017). Se le considera un vehículo importante de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) y ocupa entre el primero y el segundo lugar en alimentos asociados con ETA (Sams 2001). Lo anterior puede ser facilitado por sus particularidades fisicoquímicas tales como pH cercano a la neutralidad, actividad de agua alta, y alto contenido de proteínas y grasas (Mercado *et al.* 2012). Estas características promueven la susceptibilidad de este producto a la contaminación con diversos microorganismos, tales como las bacterias coliformes, que pueden contaminar la carne de pollo durante los procesos de beneficio.

Se han reportado múltiples y variadas fuentes de posible contaminación de la carne de pollo, tales como el tracto intestinal o la materia fecal presente en las patas o plumas del animal (Albarri *et al.* 2017). De igual forma, Marques *et al.* (2017) reportan que, en condiciones de producción, comercialización y manipulación inadecuadas, patógenos como *Salmonella* spp. y *Escherichia coli*, surgen como responsables de numerosos brotes de ETA, tanto en países desarrollados como en países con recursos limitados.

Lo anterior indica los riesgos del consumo de carne de pollo en caso de contaminación del producto, con las subsiguientes implicaciones para la salud pública. Esto ha provocado que la industria alimentaria se esfuerce en garantizar el control de la calidad sanitaria durante el procesamiento industrial, a fin de minimizar los riesgos para la salud del consumidor, contribuir a la comercialización de productos inocuos (Kim *et al.* 2017), y evitar pérdidas económicas por la contaminación microbiológica en las plantas beneficiadoras (Degli *et al.* 2018).

Para la evaluación de calidad sanitaria durante el procesamiento de las aves de corral, se ha reportado el uso de indicadores bacterianos como los recuentos de coliformes totales y los recuentos de bacterias aeróbicas. Los primeros son utilizados como un indicador de higiene en el monitoreo de los procedimientos de sacrificio y en la evaluación de la eficiencia del escaldado, flameado, evisceración y enfriamiento. Mientras que los recuentos bacterianos constituyen

un indicador de las condiciones higiénicas generales (Saad *et al.* 2015, Szczech *et al.* 2018).

Estudios recientes evidencian que un alto número de coliformes pueden indicar la presencia de patógenos intestinales como *E. coli* (Pacheco *et al.* 2017). De igual forma, Li *et al.* (2019) reportaron que los mismos pueden considerarse buenos indicadores de patógenos entéricos como *Salmonella* y *E. coli* en productos avícolas. Es oportuno destacar que aun cuando la mayoría de los aislados de *E. coli* no son patógenos, aproximadamente entre 10 a 15 % de los coliformes intestinales son oportunistas patógenas, por lo que son responsables de una variedad de lesiones en huéspedes inmunocomprometidos. Además, pueden estar asociados con enfermedades graves y en algunas ocasiones, con infecciones letales como meningitis, endocarditis, infección del tracto urinario, septicemia y diarrea epidémica de adultos y niños (Uddin *et al.* 2019).

Aunque el consumo de la carne de pollo se realiza posterior a la cocción, es oportuno resaltar que altas temperaturas de cocción no garantiza la inocuidad del producto. Se ha reportado que algunas bacterias o sus metabolitos pueden ser resistentes al proceso de cocción, como las bacterias termo-tolerantes pertenecientes al género *Campylobacter* (García *et al.* 2017) o enterotoxinas producidas por *Staphylococcus aureus*, las cuales han sido relacionadas con ETA causadas por aves de corral (Firildak *et al.* 2015).

En Venezuela, son escasos los estudios de evaluación de parámetros microbiológicos en carnes de aves como el pollo, por lo que no se cuentan con datos suficientes que permitan inferir la calidad sanitaria de los procesos asociados a la producción de pollos en el país.

Para la industria avícola nacional e internacional existen dos aspectos de particular importancia, el primero es la determinación de la calidad sanitaria de la canal a lo largo del proceso de producción; el segundo es contar con metodologías confiables y rápidas que permitan la liberación oportuna de sus productos bajo criterios microbiológicos que garanticen la inocuidad del alimento, y que sea apto para el consumo humano (Dušková *et al.* 2016). En relación al segundo aspecto, es necesario contar con las técnicas más adecuadas y rentables para la evaluación microbiológica de los pollos de consumo.

Considerando lo antes expuesto, el objetivo de este estudio fue comparar la eficiencia de tres métodos analíticos (NMP, VP, Petrifilm™) para la detección de la contaminación microbiológica por coliformes totales en pollos provenientes de una planta beneficiadora en el estado Carabobo, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de muestreo

La muestra fue obtenida en una planta de beneficio de pollos ubicada en el estado Carabobo, Venezuela. Esta empresa realiza evaluaciones periódicas del proceso de beneficio, para el control higiénico sanitario del mismo.

Muestra

Se realizó un muestreo exploratorio al azar durante 27 días continuos, de acuerdo a las recomendaciones establecidas en la Norma Venezolana COVENIN 1126 (COVENIN 1989). En cada día de muestreo se colectaron 3 pollos beneficiados tipo grado "A", con un promedio de peso de 1,8 kg, refrigerados y empacados en bolsas individuales. Los mismos fueron transportados al laboratorio de microbiología de la empresa, en recipientes isotérmicos con hielo para su procesamiento inmediato.

En concordancia con la Norma Venezolana COVENIN 2343 (COVENIN 1986), la unidad de análisis de cada pollo beneficiado consistió en una muestra de tejido muscular libre de grasa de las zonas del muslo (músculo iliotibial craneal derecho e izquierdo) y pechuga (músculo pectoral torácico derecho e izquierdo). Un total de 25 g por pollo se utilizaron en la primera dilución, homogeneizados en 225 mL de agua peptonada al 0,1 % (dilución 1/10).

Determinación de coliformes totales

A partir de la primera dilución, cada una de las muestras fue inoculada en una serie de tubos con diluciones en agua peptonada al 0,1 %. Los ensayos se realizaron por triplicado mediante los siguientes métodos:

- **Método del número más probable (NMP)**

Se realizó de acuerdo a la norma venezolana COVENIN 1104 (COVENIN 1996). Para esto se inoculó 1 mL de

cada dilución en 3 tubos de ensayo de 9 mL con campana de Durham, contenido de caldo Mac Conkey (BBL™ Becton Dickinson and Company. Sparks, MD USA). Se incubaron a 37°C por 24 h. Luego de este periodo, se agitó suavemente cada tubo y se observó la aparición de gas y turbidez, ambas apreciaciones indicaron presencia de coliformes totales. Se cuantificó el resultado utilizando la tabla de probabilidad para diluciones en tubo (NMP para tres tubos), de acuerdo a ISO (1991).

- **Vertido en placa (VP)**

Se inoculó 1 mL de cada dilución en 2 placas Petri mediante la siembra en profundidad en Agar Bilis Rojo Violeta (HIMEDIA®, Himedia laboratories, Mumbai, India), con posterior incubación a 37 °C por 24 h, de acuerdo a la metodología estándar sugerida por la norma COVENIN 1086 (COVENIN 1984). Las colonias se enumeraron al término del tiempo de incubación, en cuenta colonias tipo Quebec, considerando para el recuento únicamente las placas que tenían entre 1 y 150 colonias. El resultado expresado corresponde al número de unidades formadoras de colonias por mililitro de muestra (UFC.mL⁻¹).

- **Petrifilm™**

El procedimiento consistió en colocar 1 mL de las diluciones en el centro de la película cuadrangular inferior, para luego ubicar sobre la placa, el difusor. Se presionó suavemente para distribuir el inóculo sobre el área y se esperó 1 min para hidratar el gel. Las placas fueron incubadas durante 48 h a 35 °C (de acuerdo con la metodología estándar sugerida por la norma COVENIN 3276 (COVENIN 1997). Las colonias se enumeraron al término del tiempo de incubación, en cuenta colonias tipo Quebec, considerando para el recuento únicamente las placas que tenían entre 15 y 150 colonias. El resultado expresado corresponde al número de bacterias o unidades formadoras de colonias por mililitro de muestra (UFC.mL⁻¹).

Definición del límite de aceptabilidad

En Venezuela no se encuentra definido el límite de aceptabilidad para coliformes totales en pollo, por tanto se utilizaron como límites microbiológicos, los valores dispuestos en las normas vigentes en otros países latinoamericanos tales como Argentina, Nicaragua y Perú (Molina *et al.* 2010), considerado

como rechazables aquellos recuentos mayores a 1000 UFC.mL⁻¹ o NMP.mL⁻¹ (mayor a 3 log₁₀ UFC.mL⁻¹) y aceptables, los recuentos menores a 1000 UFC.mL⁻¹ o NMP.mL⁻¹ (menor a 3 log₁₀ UFC.mL⁻¹).

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva. Para comprobar las diferencias entre las metodologías evaluadas se utilizó la prueba de McNemar (Campbell *et al.* 2007). A los fines de evaluar la sensibilidad y especificidad de los métodos Petrifilm™ y VP en relación con el método NMP, se utilizó una curva COR (Curva Operante del Receptor). Para todas las determinaciones se utilizó el programa estadístico SPSS versión 11.0 (Visauta 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación de coliformes totales

La cuantificación de coliformes totales en las canales de pollo analizadas se muestra en el Cuadro 1. De manera específica, el método NMP detectó valores por encima de 3,04 unidades logarítmicas (log₁₀ NMP.mL⁻¹), en 63,75 % de las muestras. Para los métodos Petrifilm™ y VP, una mayor proporción de muestras presentaron recuentos entre las 2,01 y 4,01 unidades logarítmicas, con frecuencias de 75,5 y 73,75 %, respectivamente.

Las bacterias coliformes son indicadores de contaminación por enterobacterias, esto significa que su hallazgo revela la presencia de patógenos intestinales como *E. coli* y *Salmonella* spp. Con base en lo anterior, la determinación de coliformes totales constituye un parámetro importante en la evaluación de las condiciones sanitarias del procesamiento y almacenamiento del pollo (Pacheco *et al.* 2017).

Los resultados del presente estudio muestran que independientemente del método utilizado, los recuentos de coliformes se concentraron en un rango similar (entre 2 y 4 unidades logarítmicas). Lo anterior coincide con los estudios realizados por Molina *et al.* (2010), quienes describieron rangos similares o superiores para muestras de pollo crudo aliñado y sin aliñar, expendidos en diferentes supermercados de Mérida (Venezuela). Así mismo, Ibrahim *et al.* (2015) señalaron recuentos de coliformes muy parecidos a los reportados en el presente estudio (3,1 unidades

Cuadro 1. Coliformes totales mediante tres métodos a muestras de pollo grado "A" (n = 80) en una planta beneficiadora en el estado Carabobo, Venezuela.

Método	Rango		Frecuencia (%)
	(log ₁₀ NMP. mL ⁻¹)	(log ₁₀ UFC. mL ⁻¹)	
NMP	1,00 - 2,00	-	2,75
	2,01 - 3,00	-	26,25
	3,01 - 3,04	-	7,25
	mayor a 3,04	-	63,75
Petrifilm™	-	2,01 - 3,00	31,75
	-	3,01 - 4,01	43,75
	-	4,01 - 5,16	14,75
	-	mayor a 5,17	9,75
VP	-	0,00 - 1,00	2,25
	-	1,00 - 2,00	8,75
	-	2,01 - 3,00	32,50
	-	3,01 - 4,01	41,25
	-	4,02 - 5,00	12,00
	-	5,01 - 5,17	2,25
		mayor a 5,69	1,00

NMP: Número más probable, VP: Vertido en placa. NMP.mL⁻¹: Número más probable de microorganismos por mililitro, UFC.mL⁻¹: Unidades formadoras de colonias por mililitro.

logarítmicas), en muestras de canales de pollo (sacrificadas, desplumadas y evisceradas) provenientes de tiendas minoristas de varias ciudades de Egipto.

Investigaciones realizadas por Acevedo *et al.* (2015) utilizando la técnica de NMP, reportaron valores por encima de las 7 unidades logarítmicas en muestras de pechuga de pollo provenientes de varios mercados de Colombia. Otros trabajos realizados en la India y Kenia, señalan recuentos ubicados entre 4 y 7 unidades logarítmicas para muestras de carne de

pollo recolectadas de diferentes avícolas, utilizando las técnicas de vertido en placa y Petrifilm™ (Odwar *et al.* 2014, Kumar y Verma 2016).

Comparación de los métodos analíticos

Se observaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre los métodos NMP y VP ($P = 0,0126$), mientras que entre los métodos NMP y Petrifilm™, no existieron diferencias ($P = 0,6547$). Estos resultados muestran que el método Petrifilm™ es tan útil como el NMP para su empleo de rutina en la industria de alimentos, debido a la inexistencia de diferencia significativa entre ambos métodos. En un estudio realizado por Samarajeewa *et al.* (2010), no se detectaron diferencias significativas entre el método de Petrifilm™ y el método NMP para la recuperación de *E. coli* a partir de muestras ambientales de suelo. Ambas pruebas se basan en la actividad de la enzima β -D-glucuronidasa, presente en *E. coli* en un 94 %. Los resultados del presente estudio coinciden con los reportados por Rahman *et al.* (2012), quienes compararon el método de NMP y el Petrifilm™ para la detección de *E. coli* en muestras de aves de corral. Estos investigadores obtuvieron resultados similares en términos de precisión y correlación, siendo el método de Petrifilm™ uno de los métodos más prácticos.

Sensibilidad y especificidad

La relación sensibilidad-especificidad del método Petrifilm™ es mayor a la de VP (Figura 1), lo que confirma la mayor confiabilidad de Petrifilm™ como método alternativo para la determinación de coliformes totales en las muestras de pollo, sobre el NMP tradicional. En relación a lo anterior, estudios diferentes han resaltado la reproducibilidad de los resultados y los altos valores de sensibilidad y especificidad de las placas Petrifilm™ en comparación con los métodos tradicionales (Casillas *et al.* 2012, Hervert *et al.* 2017). Por otra parte, en el trabajo de Drebes *et al.* (2012) se observó la detección directamente proporcional del microorganismo de interés, en un rango de concentración de 1 a 256 UFC.mL⁻¹. Con base en estos resultados, los investigadores resaltaron la sensibilidad del método Petrifilm™ para la detección de niveles bajos de microorganismos en canales de aves de corral y la factibilidad de su uso como prueba de rutina en los laboratorios de la industria alimentaria, o incluso para laboratorios de salud pública.

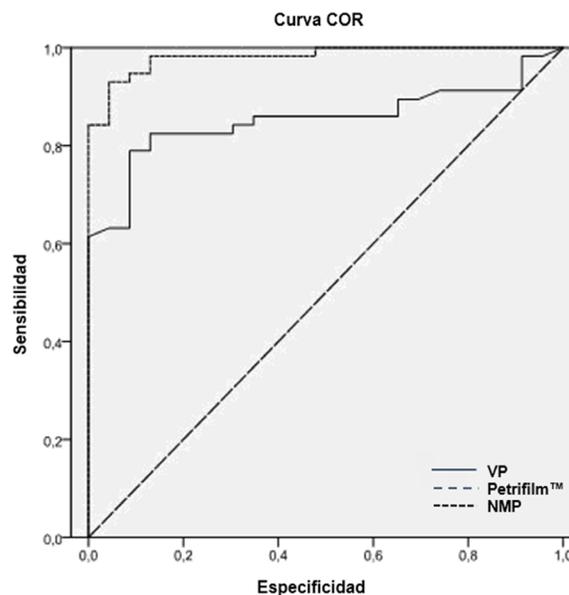


Figura 1. Análisis de la sensibilidad y especificidad de Petrifilm™ y VP en comparación con el método NMP, en el procesamiento de muestras de pollo ($n = 80$) provenientes de una planta beneficiadora en el estado Carabobo, Venezuela.

Grado de aceptabilidad

Los resultados obtenidos en relación a la aceptabilidad se muestran en el Cuadro 2. En la mayoría de las muestras, se detectaron niveles de coliformes totales superiores a los límites microbiológicos establecidos en las normativas de Argentina, Nicaragua y Perú, que se corresponden a los rangos: 2,0 - 2,69; 2,70 - 3,0 y 0 - 2,0 Log₁₀ UFC.g⁻¹, respectivamente. (Molina *et al.* 2010)

Aunque en Venezuela no se encuentra definido el límite de aceptabilidad para coliformes totales, los valores obtenidos independientemente del método de detección, indicaron que la mayoría de los productos se consideraron rechazados al observarse una proporción importante de muestras positivas (entre el 58 y 71 %) por encima del límite permitido. Estos resultados coinciden con el trabajo realizado por Pacheco *et al.* (2017), quienes reportaron recuentos en las etapas minorista y consumidor, en el 72,2 y 94,4 % de las muestras analizadas, respectivamente. Estos valores excedieron los límites máximos de coliformes totales.

Cuadro 2. Grado de Aceptabilidad de muestras de pollos grado "A" (n = 80) según recuento de coliformes totales mediante tres métodos evaluados. Carabobo, Venezuela.

Método	Rechazado (n)	Aceptado (n)	Aceptabilidad (%)
NMP	57	23	28,75
Petrifilm™	56	24	30,00
VP	46	34	42,5

NMP: Número más probable, VP: Vertido en placa.

De igual manera, Odwar *et al.* (2014), reportaron que un 76 % de las muestras estuvieron por debajo del rango aceptable para coliformes totales. Esto indica, al igual que en la presente investigación, fallas higiénicas durante el procesamiento y almacenamiento del pollo beneficiado. Los recuentos de coliformes totales por encima del límite permitido de aceptabilidad, indican la necesidad de establecer medidas correctivas desde el punto de vista higiénico-sanitario durante todas las etapas del procesamiento industrial, desde el sacrificio hasta la comercialización (Pacheco *et al.* 2017). Se ha demostrado la relación entre la deficiente calidad sanitaria y la presencia de patógenos entéricos, los cuales constituyen un riesgo para la salud de los consumidores (Ibrahim *et al.* 2015).

Finalmente, para garantizar la inocuidad de los productos alimenticios se requiere de métodos más eficientes y confiables a los fines de realizar una evaluación eficaz de estos productos. La calidad sanitaria del alimento tiene incidencias sobre varios aspectos, en primer lugar asegura la calidad y la inocuidad de los productos y procesos, disminuye las potenciales pérdidas asociadas al deterioro y decomiso de productos, además promueve la satisfacción del cliente.

En el presente trabajo se comparó la eficiencia de tres metodologías analíticas para la determinación de coliformes totales. Los resultados indicaron que la metodología Petrifilm™ fue eficiente, según las variables evaluadas. Como características favorables adicionales se menciona el ahorro de espacio en incubadoras, lo que facilita el procesamiento de una mayor cantidad de muestras. Así mismo, debido

a las características de su diseño (cuadrícula en el fondo de la película e indicadores de color para las colonias), no se requiere de la experiencia del observador para discriminar la morfología típica de coliformes, a diferencia del método VP. Por otra parte, las colonias típicas se pueden contar manualmente o automáticamente (Jasson *et al.* 2010).

De igual forma, Petrifilm™ permite mayor rapidez en la obtención de resultados comparado al método NMP, que requiere al menos 5 días. Esto indica que NMP es el menos adecuado para el análisis diario del producto (Teramura *et al.* 2017). Este último aspecto es de particular importancia para la industria avícola, que requiere la emisión rápida de resultados para la liberación oportuna de los productos alimenticios, con criterios microbiológicos que garanticen la inocuidad de los mismos.

En la actualidad, la metodología Petrifilm™ podría considerarse costosa, comparada con NMP y VP. No obstante, estas metodologías requieren la adquisición de placas y medios de cultivo que puede resultar en un mayor gasto para las empresas. Con base a los datos presentados en este estudio, se demuestra la factibilidad del uso de Petrifilm™ para la determinación de coliformes totales en canales de pollo beneficiado grado "A", debido a su rapidez, confiabilidad, practicidad y rentabilidad.

CONCLUSIONES

El método Petrifilm™ permitió la determinación de coliformes totales en muestras de pollo beneficiado grado "A", de una manera rápida, rentable y confiable.

Los resultados del presente estudio permiten inferir que el método Petrifilm™ constituye una técnica alternativa al NMP en la determinación de coliformes totales en muestras de pollo.

Los resultados obtenidos en la determinación de coliformes totales mostraron un porcentaje de aceptabilidad bajo (entre 28 y 42 %), independientemente del método utilizado. Lo anterior evidencia una deficiente calidad sanitaria del pollo beneficiado que podría coincidir con la presencia de patógenos entéricos, situación que representa un riesgo de salud para los consumidores. Se recomienda intensificar los controles higiénico-sanitarios, así como la adopción de buenas prácticas de manufactura en toda la cadena alimentaria.

LITERATURA CITADA

- Acevedo, D; Montero, P; Jaimes, J. 2015. Determination of Antibiotics and Microbiological Quality of Chicken Meat Commercialized in Cartagena (Colombia). *Información Tecnológica* 26(1):71-76.
- Albarri, O; Var, I; Meral, M; Bedir, B; Heshmati, B; Köksal, F. 2017. Prevalence of *Escherichia coli* isolated from meat, chicken and vegetable samples in Turkey. *Journal of Biotechnology Science Research* 4(3):214-222.
- Campbell, M; Machin, D; Walters, S. 2007. *Medical Statistics: a commonsense approach*. 4 ed. Chichester, Inglaterra, John Wiley & Sons. 331 p.
- Casillas, R; Heredia, N; Benesh, D; García, S. 2012. Efficacy of 3M™ Petrifilm™ aerobic count plates for enumerating *Bacillus sporothermodurans* and *Geobacillus stearothermophilus* in UHT milk. *International Dairy Journal* 25(2):147-149.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1984. Alimentos. Métodos para recuento de bacterias coliformes en placas de Petri. Norma 1086. 1ª revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 11 dic. 9 p.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1986. Pollo beneficiado. Norma 2343. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 11 feb. 10 p.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1989. Alimento. Identificación y preparación de muestras para el análisis microbiológico. Norma 1126. 1ª revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 7 jun. 11 p.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1996. Determinación del Número Más Probable de coliformes, coliformes fecales y de *Escherichia coli*. Norma 1104. 2ª revisión. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 14 ago. 15 p.
- COVENIN (Comisión venezolana de normas industriales). 1997. Alimentos. Recuento de coliformes y de *Escherichia coli* método en placa con películas secas rehidratadas (Petrifilm). Norma 3276. Caracas, Venezuela. FONDONORMA. 5 mar. 6 p.
- Degli, M; Toselli, M; Sabia, C; Messi, P; De Niederhäusern, S; Bondi, M; Iseppi, R. 2018. Effectiveness of polymeric coated films containing bacteriocin-producer living bacteria for *Listeria monocytogenes* control under simulated cold chain break (en línea). *Food Microbiology* 76:173-179. Consultado 10 may. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2Hw3j1w>
- Drebes, T; Majolo, C; Fröder, H. 2012. Evaluation of the use of Petrifilm™ EB count plates for the enumeration of *Enterobacteriaceae* in poultry samples. *Food Science and Technology* 32(3):588-593.
- Dušková, M; Kameník, J; Lačanin, I; Šedo, O; Zdráhal, Z. 2016. Lactic acid bacteria in cooked hams - Sources of contamination and chances of survival in the product (en línea). *Food Control* 61:1-5. Consultado 10 may. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3jr9wZJ>
- Firildak, G; Asan, A; Goren, E. 2015. Chicken carcasses bacterial concentration at poultry slaughtering facilities. *Asian Journal of Biological Sciences* 8(1):16-29.
- García, L; Melero, B; Jaime, I; Hänninen, M; Rossi, M; Rovira, J. 2017. *Campylobacter jejuni* survival in a poultry processing plant environment (en línea). *Food microbiology* 65:185-192. Consultado 10 may. 2020. Disponible en <https://bit.ly/34poWJH>
- Hervert, C; Martin, N; Boor, K.; Wiedmann, M. 2017. Survival and detection of coliforms, *Enterobacteriaceae*, and gram-negative bacteria in Greek yogurt. *Journal of Dairy Science* 100(2):950-960.
- ISO (International Organization for Standardization). 1991. Microbiology general guidance for the enumeration of coliforms-most probable number technique. Norma 4831. Geneva, Switzerland. ISO. 30 mar. 11 p.
- Ibrahim, H; Amin, R; El-Shater, M; Hafez, S. 2015. Bacteriological evaluation of freshly slaughtered chicken carcasses (en línea). *Benha Veterinary Medical Journal* 28(2):74-82. Consultado 20 may. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3dXWEcv>
- Jasson, V; Jacxsens, L; Luning, P; Rajkovic, A; Uyttendaele, M. 2010. Alternative microbial methods: An overview and selection criteria (en línea). *Food microbiology* 27(6):710-730. Consultado 10 may. 2020. Disponible en <https://bit.ly/2TldZTj>

- Kim, S; Park, S; Lee, S; Owens, C; Ricke, S. 2017. Assessment of chicken carcass microbiome responses during processing in the presence of commercial antimicrobials using a next generation sequencing approach (en línea). *Scientific Reports* 7:43354. Consultado 10 may. 2020. Disponible en <https://go.nature.com/3e3Dgeg>
- Kumar, A.; Verma, A. 2016. Microbial status of chicken meat sold in Western Uttar Pradesh. *Journal of Veterinary Public Health* 9(2):111-114.
- Li, Y; Pei, X; Zhang, X; Wu, L; Liu, Y; Zhou, H; Yang, D. 2019. A surveillance of microbiological contamination on raw poultry meat at retail markets in China. *Food Control* 104:99-104.
- Marques, J; Funck, G; Dannenberg, G., Cruxen, E; El Halal, S; Dias, A; Fiorentini, A; da Silva, W. 2017. Bacteriocin-like substances of *Lactobacillus curvatus* P99: characterization and application in biodegradable films for control of *Listeria monocytogenes* in cheese (en línea). *Food Microbiology* 63:159-163. Consultado 5 may. 2020. Disponible en <https://bit.ly/3jupRg8>
- Mercado, M; Ávila, J; Rey, M; Montoya, M; Carrascal, A; Correa, D. 2012. Outbreaks of *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* associated with poultry consumption. Systematic review. *Biomédica* 32(3):375-385.
- Molina, N; Millán, B; Araque, M. 2010. Indicadores de calidad sanitaria y fenotipificación de *Salmonella* enterica aislada de pollo crudo comercializado en el área urbana de Mérida, Venezuela. *Infectio* 14(3):174-185.
- Odwar, J; Kariuki, J; Kikuvu, G. 2014. A cross-sectional study on the microbiological quality and safety of raw chicken meats sold in Nairobi, Kenya. *BMC Research Notes* 7(627):1-8.
- Pacheco, D; De Bairros, J; Passos, L; Buchweitz, M; Rodrigues, K; Helbig, E; Gandra, E. 2017. Total and Thermo-Tolerant Coliforms, *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., and *Listeria monocytogenes* in Broilers Chicken Meat Processing Chain in Southern Brazil. *Journal of Food and Nutrition Research* 5(11):867-873.
- Rahman, R; Sani, N; Jemain, A. 2012. Evaluation of *Escherichia coli* Enumeration Methods in Poultry Dishes. *Sains Malaysiana* 41(3):325-331.
- Saad, S; Edris, A; Hassan, M; Edris, S. 2015. Bacteriological evaluation of half cooked chicken meat products. *Benha Veterinary Medical Journal* 28(2):135-140.
- Samarajeewa, A; Glasauer, S; Dunfield, K. 2010. Evaluation of Petrifilm™ EC method for enumeration of *E. coli* from soil. *Letters in Applied Microbiology* 50(5):457-461.
- Sams, AR. 2001 Poultry meat. *In Poultry Meat Processing and Quality*. New York, EEUU. Taylor & Francis, CRC Press. 395 p
- Szczech, M; Kowalska, B; Smolińska, U; Maciorowski, R; Oskiera, M; Michalska, A. 2018. Microbial quality of organic and conventional vegetables from Polish farms. *International Journal of Food Microbiology* 286:155-161.
- Teramura, H; Sota, K; Iwasaki, M; Ogihara, H. 2017. Comparison of the quantitative dry culture methods with both conventional media and most probable number method for the enumeration of coliforms and *Escherichia coli*/coliforms in food. *Letters in Applied Microbiology* 65(1):57-65.
- Uddin, J; Hossain, K; Hossain, S; Saha, K; Jubyda, F; Haque, R; Billah, B; Talukder, A; Parvez, A; Dey, S. 2019. Bacteriological assessments of foodborne pathogens in poultry meat at different super shops in Dhaka, Bangladesh. *Italian Journal Food Safety* 8(1):15-20.
- Visauta, VB. 2002. Análisis Estadístico con SPSS 11.0 para Windows. *Estadística Básica*. Madrid, España. McGraw-Hill. v. 1, 331 p.