

Escherichia coli O157:H7 y otros parámetros microbiológicos en carne molida y hamburguesas en San Juan – Argentina

O. Baudino^{1*}; E. Suero¹; S. Olguín¹; S. Amado¹; N. Flores¹; M. Cattaneo²

¹Instituto de Biotecnología, Facultad de Ingeniería. Univ. Nac. San Juan. San Juan, Argentina

²Laboratorio Central, Hospital Guillermo Rawson. San Juan, Argentina

*obaudino@unsj.edu.ar



Resumen

Las ETA (enfermedades transmitidas por alimentos), particularmente las de origen microbiano, tienen gran importancia. Los productos cárnicos pueden originar diversas enfermedades, como el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) asociado a *Escherichia coli* O157:H7. En este trabajo se evaluaron microbiológicamente 98 muestras distribuidas entre carne molida y hamburguesas provenientes de puntos de venta de departamentos del Gran San Juan. Se encontró que el 28,1% de muestras de mercados grandes y el 56% de las de mercados chicos exceden los valores permitidos por el CAA en *E. coli* y/o BAM (bacterias aerobias mesófilas). Solo dos muestras de hamburguesas fueron sospechosas de *E. coli* O157 H7, siendo los ensayos confirmatorios negativos.

Palabras claves: carne molida; hamburguesa; contaminación; *Escherichia coli*.

Introducción

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), constituyen un problema sanitario y económico a nivel mundial. Particularmente aquellas de origen microbiano

constituyen un 90% de las ETA notificadas (Voltattoni y col. 2002). En toda la cadena de producción de los alimentos existe la posibilidad de introducción de gérmenes tanto patógenos como no patógenos, especialmente si no se siguen las buenas prácticas de manufactura (BPM). Además, la deficiente calidad higiénica de las materias primas, la inadecuada conservación y almacenamiento aumentan el riesgo de aparición de ETA (Howard B. J. *et al*, 1994). El consumo de alimentos cárnicos crudos o mal cocidos, principalmente aquellos que usan como materia prima carnes molidas o picadas, puede generar patologías muy graves (Remuzzi *et al*. 1995) como las producidas por *Escherichia coli* generador de

toxina Shiga (STEC), que es causante de diarrea con o sin sangre y síndrome urémico hemolítico (SUH). A pesar de que el serotipo O157:H7 es el prevalente, existen otros serotipos como O26:H11, O103:H2, O111: NM y O121:H19 también de alto poder patogénico (World Health Organization, 1998). Los principales factores de virulencia son las toxinas Shiga stx, la proteína intimina y la enterolisina. Bacterias como *Shigella dysenteriae* tipo 1, *Campylobacter* sp, *S. neumoniae* y otras han sido asociadas a casos de SUH. Las bajas dosis infectivas de *E. coli* O157 (menos de 100 ufc/g), permiten afirmar que es uno de los patógenos transmitidos por alimentos de más alto riesgo para la salud (Doyle M. P. *et al*, 2001). Numerosos estudios indican que el principal reservorio de STEC y la vía principal de transmisión, aunque no la única, de O157 y no O157 son los alimentos cárnicos insuficientemente cocidos (Ørscov F. *et al*, 1987). Existe en nuestro país bibliografía que acredita la existencia de *E. coli* productor de toxinas Shiga (Gómez D. *et al*, 2002; Marzoca MA. *et al*, 2006; Chinen I. *et al*, 2001) en hamburguesas, carne molida y carne trozada vendidas al menudeo. En la provincia de San Juan, de acuerdo a los datos proporcionados por el Departamento de

Epidemiología de la Secretaría de Salud Pública de la provincia de San Juan, Argentina, en el período 2004-2009 se diagnosticaron dos casos de SUH que fueron corroborados con las pruebas específicas de laboratorio para *E. coli* O157:H7, aunque en el mismo período se produjeron una decena de casos clínicamente sospechosos no confirmados por laboratorio.

En el presente trabajo se evalúa la calidad microbiológica de carnes molidas frescas y hamburguesas crudas congeladas que se expenden en puntos de venta del gran San Juan. Para ello se utilizaron los indicadores señalados por el CAA (Código Alimentario Argentino) Resolución Conjunta SPyRS y SAGPYA N° 79/04 y 500/04, publicada en el Boletín Oficial N° 30.407 del 24/05/04, para carnes picadas y sus derivados (ANMAT- CAA, 2010). Esta establece criterios complementarios (recuento de BAM - bacterias aerobias mesófilas: n=5 c=3; m=10⁶ M= 10⁷ y *E. coli*: n=5 c=2; m=100 M= 500) y el criterio obligatorio (*E. coli* O157:H7: n= 5 c=0; Ausencia /65 g) cuyo cumplimiento asegura la inocuidad de estos alimentos.

Materiales y métodos

Toma de muestra

Se tomaron muestras aleatorias, de 500 g c/u, en puntos de venta de los departamentos del gran San Juan, manteniéndose la cadena de frío durante el traslado al laboratorio. En todos los casos los análisis se realizaron el mismo día a partir de las alícuotas correspondientes a cada uno de los ensayos microbiológicos.

Drogas y reactivos

Todas las drogas y reactivos utilizados en el trabajo fueron de calidad microbiológica provisto por Merck.

Métodos

El análisis de bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas mesófilas totales se realizó mediante la técnica de recuento en placa. Los recuentos de *E. coli* se realizaron por el método del NMP. Para la investigación presuntiva de *E. coli* O157 (incluyendo H7 y no H7), se usó el método inmunocromatográfico de Singlepath provisto por Merck y validado por AOAC. Se tomaron 65g de muestra y se colocaron en bolsas estériles selladas para homogeneizar, utilizando para el enriquecimiento caldo mEC con novobiocina. Las muestras positivas fueron investigadas para confirmación en el servicio de Fisiopatogenia del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán. La pruebas específicas para la confirmación consistieron en la detección de los genes de virulencia stx1, stx2, eaeA y EHEC-hlyA por PCR e hibridación con sondas genéticas del serotipo,

con antisueros específicos, producción de Stx por ensayo de citotoxicidad en células Vero (Gomez D. y col. 2002) y sensibilidad a los antimicrobianos por el método de difusión de Kirby- Bauer para ampicilina, amicacina, ciprofloxacina, colistina, cloranfenicol, gentamicina, ácido nalidixico, nitrofurantoína, estreptomina, tetraciclina, y trimetropima-sulfa metoxazol (National Committee For Clinical Laboratory Standards. Performance Standards, 2000).

Resultados

Los puntos de muestreo se seleccionaron aleatoriamente, tanto en la ciudad capital como en todos los departamentos que componen el Gran San Juan. Se tomaron 98 muestras, 34 de hamburguesas y 64 de carne molida o triturada recientemente, entre agosto de 2008 - marzo de 2009; agosto de 2009 - febrero de 2010, y agosto 2010 - diciembre 2010. El total de las muestras distribuidas por departamento se observa en la tabla 1.

El total de muestras por departamento corresponde a la suma de carne molida y hamburguesas, siendo la proporción de las mismas aproximadamente 3:1.

Se considera dos clases de puntos de venta: mercados chicos (Mch) y mercados grandes (MG). Como criterio para la caracterización de estas clases se establece como parámetros: 1) número de emple-

Tabla 1 - Distribución de muestras por departamento

Departamento	N° de Muestras
Capital	22
Rivadavia	18
Santa Lucía	21
Rawson	20
Chimbas	17
Total	98

Tabla 2 - Distribución de muestras por clase de mercado y departamento

Departamento	N° de muestras de MG	N° de muestras de MCh
Capital	5	16
Rivadavia	5	13
Santa Lucía	7	14
Rawson	8	12
Chimbas	6	11
Total	32	66

Figura 1 - Porcentaje de cumplimiento de criterios complementarios del CAA de muestras de mercados grandes

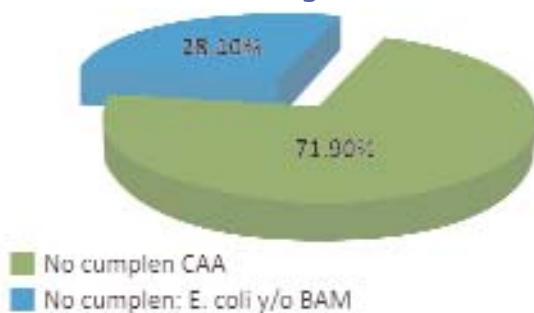


Tabla 3 - Distribución porcentual de muestras que no cumplen los criterios complementarios del CAA en MG por departamento

Departamento	Muestras que no cumplen en MG
Capital	0%
Rivadavia	3,1%
Santa Lucía	12,5%
Rawson	3,1%
Chimbas	9,4%
Total	28,1%

Figura 2 - Porcentaje de cumplimiento de criterios complementarios del CAA de muestras de mercados chicos

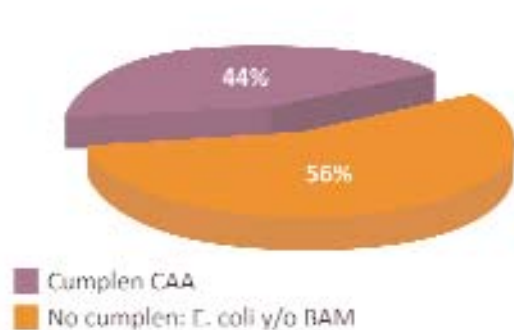


Tabla 4 - Distribución porcentual de muestras en MCh por departamento

Departamento	Muestras que no cumplen en MCh
Capital	12,1%
Rivadavia	13,6%
Santa Lucía	10,6%
Rawson	10,6%
Chimbas	9,2%
Total	56,1%

ados; 2) zonas de molienda delimitadas; 3) asociación de carne con otros alimentos 4) asociación de expendio y manejo de dinero.

La distribución de muestras con respecto a las clases de mercado establecidas es de 67,4% de Mch y 38,6% de MG, con una distribución departamental que se muestra en la tabla 2. A partir de los criterios considerados, se encontró que en los mercados grandes (hipermercados, frigoríficos, etc.) los criterios utilizados en la comercialización son similares, como así también su volumen de venta. En contraposición encontramos que los mercados chicos presentan grandes variaciones con respecto a los criterios establecidos.

El análisis microbiológico de las muestras de mercados grandes puso en evidencia que el 28,1% no cumple con al menos uno de los criterios complementarios establecidos por el CAA referido a bacterias aeróbicas y anaeróbicas facultativas mesófilas totales (BAM) y *E. coli*, como se observa en la figura 1, con valores que se ubican en el rango de, $10^7 - 10^8$ para BAM, y de 500-930 NMP/g para *E. coli*.

Analizando los datos obtenidos de muestras que no cumplen, en mercados grandes, surge que los departamentos con mayor densidad urbana (Capital, Rivadavia y Rawson) tienen un mayor grado de cumplimiento de los criterios complementario del CAA ($\sigma \pm 5,2\%$), como se muestra en la tabla 3.

Con respecto a los mercados chicos, los resultados que se observan en la figura 2 muestran que el 56% no cumple con los parámetros microbiológicos considerados, con valores en el rango de $10^7 - 10^9$ para BAM y $750 - 3 \times 10^4$ NMP/g para *E. coli*. La distribución por departamento se muestra en la tabla 4, en la que no se observan diferencias significativas con respecto a la distribución geográfica ($\sigma \pm 1,7\%$).

En los ensayos para determinar la presencia de *E. coli* O157 H7 (criterio obligatorio del CAA), sólo dos muestras correspondientes a hamburguesa dieron positivo el ensayo de Singlepath. Las cepas aisladas de estos cultivos fueron enviadas al servicio de Fisiopatogenia del Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas - ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán, a través del Laboratorio Central del Hospital Guillermo Rawson San Juan, para la caracterización fenotípica y genotípica, resultando negativos los ensayos confirmatorios específicos de ambas muestras.

Conclusiones

- Los resultados obtenidos con respecto a recuento de aerobios mesófilos y *E. coli* concuerdan con los criterios considerados para la clasificación de los mercados en dos clases, poniendo de manifiesto las condi-

ciones higiénicas de los establecimientos y de las personas involucradas en el proceso de comercialización.

- El análisis microbiológico de las muestras provenientes de mercados grandes muestra un mayor grado de cumplimiento de los criterios complementarios (71,9%) y ponen en evidencia que las buenas prácticas de manipulación de alimentos son llevadas a cabo de manera efectiva.

- Los mayores valores de BAM y *E. coli* encontrados en muestras de mercados chicos pueden atribuirse a la falta de implementación de normas de higiene,

como por ejemplo las deficiencias en la manipulación que fueron observadas al momento de la toma de muestra, existencia de carne previamente molida en bandejas, contaminaciones cruzadas por la venta simultánea de otros alimentos como frutas y verduras, personal sin la vestimenta adecuada, y manipulación simultánea de dinero con el producto.

- Los ensayos realizados para determinar presencia *E. coli* O157 H7 fueron negativos, lo que coincide con el bajo índice de SUH asociado a este microorganismo en San Juan. Sin embargo, los altos índices de contaminación indican un peligro potencial.

Referencias

ANMAT- Código Alimentario Argentino, 2010. www.anmat.gov.ar/normativas_alimentos.asp

Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, Lound LH, Chillemi G, Ledri S, et al. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *J Foot Prot.* 2001; 64: 1346-51

Doyle MP, Zhao T, Meng J, Zhao S. *Escherichia coli* O157:H7. En: Doyle,Beuchat, Montville , editores. *Microbiología de los alimentos. Fundamentos y fronteras.* Zaragoza, España, Editorial Acribia SA, 2001, p. 177-98

Gómez D, Miliwebsky E, Fernandez Pascua C, Baschkier A, Manfredi E, Zotta M, et al. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productor de Shiga en hamburguesas supercongeladas y quesos de pasta blanda. *Rev. Argent. Microbiol.* 2002; 34: 66-71.

Gomez D.,Miliwebsky E., Fernandez Pascua C., Bashkier A., Manfredi E., Zota M., et al. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en hamburguesas supercongeladas y quesos de pasta blanda. *Rev. Argent. Microbiol* 2002; 34:66-71

Howard BJ, Rees JC. Host-Parasite Interactions: Mechanisms of Pathogenicity. In: *Clinical and Pathogenic Microbiology.* Howard BJ, Keiser JF, Smith TF, Weissfeld AS, Tilton RC. Eds. 2nd ed. Mosby - Year Book Inc. St. Louis MO; 1994: 9-36.

Marzoca MA, Marucchi P.L., Sica M.G., Álvarez E.E. detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. *Revista Argentina de Microbiología* (2006) 38:38-40

National Committee For Clinical Laboratory Standars. *Performance Standars for antimicrobial disk susceptibility test.* 7 edition 2000; approbed standars M100- S10. Wayne, Pa, USA

Ørscov F, Ørscov I, Villar JA. Cattle as reservoir of verotoxin -producing *Escherichia coli* O157:H7. *Lancet* 1987; ii:276

Remuzzi, C and Ruggenti, P. (1995). The hemolytic uremic syndrome. *Perspective in clinical nephrology.* *Kidney international* 147 : 2 -9.

Voltatoni, P. Hofer, C; Redolfi, A; Figueroa, P; Aqenli, V; Dueñas, S; Baita, L; Monteverde, M; Fernadez, L y Balague, C. Identificación de virotipos de *e. coli* aislados de alimentos listos para el consumo. *Rev. Investigación en salud.* Vol. 5 N°1 y 2. 2002. Publicación científica de la Secretaría de Salud Pública Municipal. Rosario. Santa Fe. Rep. Argentina.

Word Health Organization (1998). *Zoonotic non- O157 Shiga Toxin- Producing Escherichia coli (STEC),* Word Health Organization, Depatment of communicable Disease Surveillance and Response WHO/CSR/APH/98.8. Berlin, Germany.