

Determinación de *Escherichia COLI* 0157:H7 en productos cárnicos de mercados de la ciudad de Encarnación

Autoras: *María Teresa Lezcano¹, María Elena Damús²*
Universidad Nacional de Itapúa Encarnación – Paraguay

RESUMEN

Escherichiacoli 0157:H7 es un patógeno emergente asociado a enfermedades transmitidas por alimentos. El objetivo de este trabajo fue determinar su presencia en carne cruda molida vacuna, muestras obtenidas al azar en los supermercados, carnicerías, despensas y feria municipal de la ciudad de Encarnación, en un total de 30 muestras en el periodo comprendido entre julio a noviembre del año 2011. Las mismas fueron procesadas en el medio EMB y MacConkey sorbitol para aislamiento. Las colonias lactosa positiva fueron repicadas en ATS para tipificación y serología. No se han aislados cepas de *Escherichiacoli* 0157:H7 en las muestras analizadas, no obstante cabe mencionar la presencia de *Klebsiella* sp. (56%), *Proteus* sp. (27%), *Enterobacter* sp., (17%), *Escherichia coli* sp. (10%) (No *E. coli* 0157:H7), *Citrobacter* sp (7%), *Pseudomonas* sp (7%). La identificación de estos microorganismos en número elevado puede representar riesgos para la salud de los consumidores, están asociadas a la deficiente limpieza e higiene de los utensilios utilizados en el transporte y/o faena de los productos cárnicos, como así también en la manipulación inadecuada.

Palabras clave: *Escherichia coli* 0157:H7, productos cárnicos

ABSTRACT

Escherichia coli 0157:H7 is an emergent pathogen associated with food transmitted diseases. The objective of this work was to detect the microorganism in raw ground beef, random samples in supermarket, butcher shops, food pantries and municipal fair city of Encarnación, totaling 30 samples in the period from July to November 2011. These samples were processed in between EMB and MacConkey sorbitol for isolation. Lactose positive colonies were pricked in ATS for typing and serology. Was not isolated from *E. coli* 0157:H7 in samples of raw ground beef, however include the presence of *Klebsiella* sp. (56%), *Proteus* sp. (27%), *Enterobacter* sp., (17%), *Escherichia coli* sp. (10%) (No *E. coli* 0157:H7), *Citrobacter* sp (7%), *Pseudomonas* sp (7%). The identification of these microorganisms in large numbers can pose risks to consumer health, are associated with poor cleanliness and hygiene of the equipment used in transport and/or slaughter of meat products, as well as the improper handling.

Key word: *Escherichia coli* 0157:H7, meat products

¹Bioquímica y Docente Investigadora de la UNI, terelezmaci@ yahoo.com.ar

²Bioquímica y Docente Investigadora de la UNI, cyt@uni.edu.py

Introducción

Eschericoli es parte de la flora normal entérica, se conocen distintas clases de *Escherichiacoli*, algunas son inocuas, mientras otras causan diarreas, enfermedades septicémicas y síndromes de diversa gravedad(1).

Las cepas de *Escherichiacoli* que provocan la enfermedad diarreica se clasifican en grupos específicos basados en la virulencia, mecanismos de patogenidad, síndromes clínicos y serogrupos O: H diferentes.

Estas clases incluyen la *Escherichiacoli* enteropatógenas, enterotoxigénicas, enteroinvasivas, enteroagregantes y enterohemorrágicas.

La *Escherichia coli* enterohemorrágica fueron identificadas por primera vez como patógenos humanos en 1982 cuando *E.coli* O157 :H 7 fue relacionados con el consumo de alimentos de origen bovino crudos o cocidos insuficientemente.

Los niños y ancianos son los grupos más expuestos a la infección con *Escherichiacoli* O157 :H7.

El predominio específico de edad es máximo en los niños menores de 5 años de edad, disminuye gradualmente con la edad, y vuelve a aumentar en las personas mayores de 65 años.

Las personas infectadas con la E.coli O157:H 7 pueden desarrollar una serie de síntomas, como ser diarrea leve o grave, dolores abdominales, con frecuencia las heces contienen sangre, estos síntomas pueden aparecer al tercer día de exposición, pudiendo oscilar entre uno y nueve días (3). En niños menores de 5 años la infección puede ocasionar una complicación llamada Síndrome Urémico Hemolítico. Se trata de una enfermedad que destruye a los Glóbulos rojos, ocasionado afección a nivel renal, puede ser necesario realizar transfusiones de sangre o de factores de coagulación sanguínea, así como diálisis renal.(4)

Se hizo necesario determinar la presencia Escherichiacoli O157 H7 en carne cruda molida, debido al riesgo potencial de enfermedades causadas por consumir productos de carne sin cocinar o sin procesar debidamente, que pueden estar contaminadas con esta bacteria.

La infección puede también resultar de una contaminación fecal del agua y de varios alimentos, o de una contaminación cruzada durante la preparación de los mismos.

Las hamburguesas, jugo de manzanas frescas, yogurt, embutidos, han sido implicados en brotes epidémicos. Por otra parte la bacteria tiene la capacidad de sobrevivir bajo condiciones de refrigeración y congelación así como a pH extremos, características que la hacen importante en el campo de la salud como factor de riesgo para la población(5).

En los últimos años ha aparecido una nueva variante conocida como Escherichia coli enterohemorrágica O157: H7, siendo reconocido como microorganismo perjudicial para el hombre, causante de moderados índices de mortalidad y morbilidad, relacionándose con la aparición de Colitis Hemorrágica que se caracteriza por un repentino e intenso dolor abdominal seguido por diarrea acuosa y sanguinolenta, vómito y presencia o no de fiebre. El Síndrome Urémico Hemolítico(SUH)se considera una consecuencia de la Colitis Hemorrágica en niños y causa insuficiencia renal que puede progresar a

Púrpura Trombocitopénica Trombótica (PTT)produciendo alteraciones del sistema nervioso central que termina en coma y muerte(6).

La contaminación de la carne durante la faena es el principal modo de transmisión de E. coli O157:H7 a los alimentos; los productos elaborados con carne picada han estado implicados en la mayoría de los brotes, fundamentalmente asociados al consumo de hamburguesas (10).

La infección puede también resultar de una contaminación fecal del agua y de varios alimentos, o de una contaminación cruzada durante la preparación de los mismos. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue; Determinar la presencia de Escherichiacoli O157:H7 en carne molida cruda vacuna de mercados de la ciudad de Encarnación.

Materiales y Métodos

Fueron analizadas 30 muestras de 200 gramos de carne molida cruda vacuna obtenidas al azar en los supermercados, carnicerías, despensas y feria municipal de la ciudad de Encarnación durante los meses de julio a noviembre del año 2011. Durante el transporte, las muestras fueron colectadas en frascos estériles, fueron colocadas en conservadoras con refrigerantes y llevadas al laboratorio de Microbiología de alimentos de la Universidad Nacional de Itapúa donde fueron conservadas en refrigeración hasta su procesamiento. Allí se realizaron las determinaciones correspondientes para los aislamientos de las cepas de Escherichiacoli O157:H7.

El muestreo fue probabilístico, el diseño de estudio fue de tipo prospectivo, transversal y descriptivo.

Análisis microbiológico

Las muestras fueron sometidas a una incubación previa en agua peptonada, 25 gramos de carne cruda bovina molida en 225 ml de agua peptonada. Posteriormente se realizó la siembra para aislamiento en ágar Eosina azul de metileno y ágar Mac Conkey con sorbitol, con una incubación de 18 a 24 horas en atmósfera aerobia de 35 °C a 37 °C.



Identificación y Caracterización de los aislamientos

La identificación de los aislamientos se realizó mediante pruebas bioquímicas (producción de indol, movilidad, producción de SH₂, fermentación de glucosa, fermentación de lactosa, producción de gas, descarboxilación de lisina, rojo de metilo y VogesProskauer, descarboxilación de ornitina, producción de ureasa, prueba de fenilalanina desaminasa, utilización de citrato, fermentación de hidratos de carbono en caldo rojo fenol, y su serotificación somática

Resultado y Discusión

Los productos de consumo de origen animal han sido descritos como fuente primaria de contaminación por diversas bacterias patógenas, incluyendo la *E. coli* 0157:H7. Por lo tanto, la determinación de estas bacterias en ellos es esencial para la evaluación

epidemiológica de las patologías provocadas por una posible infección y su impacto en salud pública. Con respecto a *E. coli* 0157:H7, y a pesar de que su aislamiento se ha notificado en diferentes partes del mundo, en los países tropicales existen muy pocos reportes al respecto (7).

En el presente trabajo no se aislaron cepas de *E. coli* 0157:H7 a partir de muestras de carne molida cruda vacuna. La ausencia de resultados positivos podría deberse a la baja incidencia de esta bacteria en el ambiente y a la dificultad que supone su aislamiento, a ello se suma el hecho de que se prevalencia e incidencia son variables (9).



La detección de *E. coli* 0157:H7 en alimentos se puede efectuar utilizando métodos de cultivos directos, o empleando previamente una inmunoconcentración a fin de elevar la sensibilidad de los mismos. Es difícil comparar los resultados obtenidos en diferentes partes del mundo debido a la variedad de los procedimientos utilizados (10). Champman et. Al, han efectuado estudios comparativos utilizando técnicas de inmunoconcentración y han corroborado el incremento de sensibilidad con respecto al uso de subcultivos posteriores. La metodología recomendada por el United States Department of Agriculture / food Safety and inspection Service (USDA/FSIS), es la concentración con partículas inmuno magnéticas frente a un inóculo de 1 bacteria por cada 10 g, pero no se detectó la presencia de *E. coli* 0157:H7 en todas

aquellas muestras inoculadas con 1 bacteria por cada 100 g (8).

Con metodologías de aislamiento basadas en cultivo directo o con enriquecimiento previo, se notificó la detección de *E. coli* 0157:H7 en 0,12% de muestras de carne vacuna cruda (n=1668), recolectadas como parte de la vigilancia nacional realizada en los Estados Unidos. En Holanda se describió el aislamiento de STEC 0157:H7 en el 0,3% de 770 muestras de mezclas de carne picada vacuna y de cerdo, pero no fue posible aislar este microorganismo a partir de productos a base de carne vacuna (N=1000), de carne porcina (n=260), ni de aves (n=300) mediante el cultivo en SMAC con enriquecimiento previo. Estos resultados indican que la frecuencia de aislamiento de STEC 0157:H7 a partir de carnes es baja o nula con los métodos tradicionales (10).



Los cárnicos han sido descritos como el principal vehículo de transmisión de esta bacteria a los seres humanos. La mayoría de los brotes alimentarios han sido asociados al consumo de productos derivados del ganado vacuno, especialmente carne molida y leche cruda. En este contexto, la carne vacuna representa el alimento que ocupa el primer lugar donde se ha aislado esta bacteria, lo que se refleja en las estadísticas de prevalencia en carne de vaca molida/deshuesada, siendo de 5% a 18% en Canadá. La explicación de este hecho se atribuye a las operaciones de molido con equipo contaminado y a un procesamiento inadecuado en la remoción de cuero y del tracto gastrointestinal, principal reservorio de dicha bacteria (7). En Paraguay son escasos los estudios realizados sobre la detección de *E. coli* 0157:H7 en alimentos, por

lo cual la detección, identificación y caracterización de este patógeno emergente en alimentos y en los procesos de producción de los mismos, podría ser una herramienta fundamental para prevenir la posible infección en los consumidores (16).

No obstante, se han aislados enterobacterias, y bacilos gramnegativos no fermentadores. El análisis de estos datos revela que si bien no se ha determinado la presencia de *Escherichiacoli* 0157:H7 están presentes contaminaciones. La presencia de estos microorganismos en alimentos indica condiciones deficientes de higiene. Los datos de la tabla 1 muestran los valores obtenidos de enterobacterias (patógenas oportunistas) en las 30 muestras de carne molida cruda. El análisis de estos datos revela que las mayores contaminaciones son a *Klebsiellasp.* (56%), seguidas de *Proteussp.* (27%), *Enterobacter* (17%), *Echerichiacoli* (No *E. coli* 0157H:7) (10%) y *Citrobactersp* y *Pseudomonassp* con el 7%.

Tabla 1- Cepas aisladas en las 30 muestras de carne molida cruda

<i>Cepas</i>		<i>Porcentaje</i>
<i>Klebsiellasp.</i>	16	56%
<i>Proteussp.</i>	8	27%
<i>Enterobactersp.</i>	5	17%
<i>Escherichia coli</i> (No <i>E. coli</i> 0157:H7)	3	10%
<i>Citrobactersp.</i>	2	7%
<i>Pseudomonassp.</i>	2	7%

La presencia constatada de *Escherichiacoli* en los alimentos es un indicador de contaminaciones indeseables, lo que debe motivar la toma de decisiones en el sentido de implementar acciones correctivas en el proceso de producción. Las grandes industrias que destinan su producción de carne a la exportación, normalmente, aplican las normas de higiene exigidas, para garantizar la salud del consumidor. Sin embargo, en los pequeños mataderos no siempre pueden aplicarse ni controlarse todas estas exigencias (12).

La identificación de estos microorganismos en número elevado puede representar riesgos para la salud de los consumidores. Las contaminaciones pueden también estar asociadas a la deficiente limpieza e higiene de los utensilios utilizados en el transporte y/o faena de los productos cárnicos, como así también en la manipulación inadecuada.

Si bien la presencia de estos microorganismos no causan una enfermedad grave, pueden provocar gastroenteritis. La gastroenteritis aguda se caracteriza por presentar dos o más de los siguientes síntomas: vómitos, náuseas, fiebre, escalofríos, dolores abdominales y diarrea, los cuales ocurren después de las 12 a 24 horas de ingerido el alimento o del agua contaminada. Por otro lado la diarrea crónica es caracterizada por los síntomas de disentería: deposiciones diarreicas con olor fétido y mucosidad, flatulencia y distensión abdominal. Esta enfermedad puede durar meses y requiere ser tratada con antibióticos (13).

Conclusión

No se han aislados cepas de *Escherichiacoli* O157:H7 en la muestras analizadas, se han encontraron enterobacterias y *Pseudomonassp*, estos microorganismos indicadores revelan la presencia de un posible peligro para la salud, demostrando así la necesidad del monitoreo continuo para detectar la presencia de *Escherichiacoli* O157:H7 en las carnes cruda molida en la ciudad de Encarnación podría permitir un control de calidad para los alimentos, así poder prevenir infecciones producidas por este agente patógeno mediante la educación del manejo que se le debe dar al producto por parte de los productores y los consumidores.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la presencia de bacterias patógenas en alimentos de origen animal en Encarnación, por lo que es importante recalcar la trascendencia del tratamiento térmico en este tipo de productos, así como la necesidad de la aplicación de las medidas educativas y preventivas, en los distintos ámbitos que estén involucrados con la producción y consumo de productos cárnicos.

Bibliografía

1. World Health Organization (WHO). Prevention and control of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections. Report of a WHO Consultation. WorldHealthOrganization, Geneva, 1997.
2. <http://www.pbs.org/wgbh/nova/madcow/resources.html>
3. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas (INEI) - ANLIS "Dr. Carlos Malbrán" Servicio de Fisiopatogenia - Departamento de Bacteriología. Ministerio de Salud y Ambiente - Secretaría de Políticas, Regulación y Relaciones Sanitarias - Argentina. Organización Panamericana de la Salud (OPS). Manual de Procedimientos. Detección de *Escherichiacoli* productor de toxina Shiga O157 y no-O157 en alimentos por separación inmunomagnética y PCR. 2006.
4. Levine, MM. *Escherichiacoli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enteroinvasive, enterohaemorrhagic and enteroadherent. J. Infect. Dis. 1987; 155: 377-89.
5. Barret TJ, Lior H, Green JH, Khakhria R, Wells JG, Bell BP, Greene KD, Lewis J, Griffin PM. Laboratory investigation of a multistate food-borne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 by using pulsed-field gel electrophoresis and phage typing. J. Clin. Microbiol. 1994; 32:3013-7.
6. Watanabe H, Wada A, Inagaki Y, Itoh K, Tamura K. Outbreaks of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 infection by two different genotype strains in Japan. Lancet 1996; 348: 381-2.
7. Reuben, Alejandra, Treminio, Hellen, Arias, María Laura et al. Presencia de *Escherichiacoli* O157: H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.* en alimentos de origen animal en Costa Rica. ALAN. [online]. dic. 2003, vol.53, no.4 [citado 30

Noviembre 2011], p.389-392. Disponible en la World WideWeb: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222003000400009&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0004-0622.

8. Marzocca, M. A.; Marucci, P. L.; Sica, M. G. y Alvarez, E. E. Detección de Escherichiacoli O157: H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. Rev. argent. microbiol. [online]. 2006, vol.38, n.1 [citado 2011-11-30], pp. 38-40 . Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032575412006000100011&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1851-7617.

9. Reuben A, H Treminio, ML Aris& L Villalobos. Isolation of Escherichia coli O157:H7 from Costa Rican foods. RevBiomed. In press

10. Roldan, M. L. et al. Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de Escherichiacoli O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche. Rev. argent. microbiol. [online]. 2007, vol.39, n.2 [citado 2011-11-30], pp. 113-119. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S032575412007000200012&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1851-7617.

11.<http://190.25.230.149:8080/dspace/bitstream/123456789/215/1/DETERMINACION%20DE%20E.%20COLI%20O157%20%20H7.pdf>

12. <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/intro.html>

13. Primer aislamiento de Escherichiacoli o157:H7 a partir de hamburguesas en Paraguay.

María Teresa Lezcano

Bioquímica. Universidad Nacional de Misiones. Año 2005.

Diplomado en HIV/SIDA/ITS. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social.

Especialidad: cursando la Especialidad en Bacteriología Clínica Universidad Nacional del Nordeste Resistencia -Chaco Argentina.

Especialidad : cursando la Especialidad en Docencia e Investigación Universidad Nacional de Itapúa. Encarnación - Paraguay.

Becaria en Investigación en el Proyecto: Determinación de Fenotipo a Macrólidos y concentración inhibitoria mínima frente a diversos antimicrobianos en Streptococcusagalactiae. Institución Otorgante: Comité Ejecutivo de Desarrollo e Innovación Tecnológica (CEDIT), Posadas - Argentina

Bioquímica. Laboratorio Clínica Tajy, Hospital Regional Encarnación, Instituto de Previsión Social. Profesor investigador. Facultad de Medicina. Universidad Nacional de Itapúa. Encarnación - Paraguay

Publicaciones: Marina Quiroga, María Teresa Lezcano, Pablo Gerula, Margarita Valle, Marta Vergara, Viviana Villalba. 2002. Comparison of screenig methods for detection of extended-spectrum β - Lactamase producing strains isolated in Posadas, Misiones, Argentina. Internacional Journal of AntimicrobialAgents. 20:307-308.

M.Quiroga, M.T.Lezcano, B. Martín Talavera, M.G.Caceres. M. Vergara 2009 B-lactamResistance in Variants of Aeromonasspp .Selected In Vitro Under Antibiotic Pressure Journal of Chemotherapy Vol 21- n 6 (701-702)2009.ISSN 1120-009X.

Profesora Investigador Universidad Nacional de Itapúa.

Profesora Titular Cátedra Microbiología Universidad Nacional del Norte –Encarnación.