

Vigilancia de *Escherichia coli* O157: H7 en alimentos y aguas

Monitoring Escherichia coli O157: H7 in food and water

Recibido: enero 07 de 2013 | Revisado: marzo 04 de 2013 | Aceptado: mayo 16 de 2013

CÉSAR GUERRERO BARRANTES
ALFREDO GUILLÉN ONEGLIO
ROBERTO ROJAS LEÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA
UNIVERSIDAD NACIONAL FEDERICO VILLARREAL

ABSTRACT

Food such as ground beef, cheese, ham and lettuce are in high demand for consumption by the population and are susceptible to pollution; the water of the rivers are used by inhabitants of the towns nearby. In our environment, we do not have reports on surveillance studies of *E. coli* O157: H7 in samples of waters of the Rimac River East and food markets of Lima. For the evaluation of food we proceeded as indicated by Feng & Weagant (2002) and for the water evaluation 50 mL of sample was added to 150 mL of concentrated double TSBm and incubated at 37 ° C for 18 h and transferred to a Mac Conkey agar and incubated at 37 ° C for 24 hours. We selected 5 lactose positive colonies sample and identified as *E. coli*, as well as their inability to use sorbitol and determination of the antigen somatic O157 and flagellar H7, confirming *E. coli* O157H7. From 309 samples of foods, 82 lettuce, 76 cheeses, 76 ham and 75 of ground beef, processed, 187 were positive for *E. coli* (60.5%), corresponding to 47 from lettuce, 60 from fresh cheese, 48 from ham and 32 from ground beef; whereas from the 75 samples of river water processed, 36 were positive for *E. coli* (48%). From 223 *E. coli* strains, five (5) cultures were positive for *E. coli* O157: H7, corresponding to 2 from lettuce (2.4%) and 3 from ground beef (4%). We did not detect *E. coli* O157: H7 in samples of water, ham and cheese. Lettuce may represent the High-risk food in the transmission of *E. coli* O157: H7 to mankind, followed meat, due to by cross-contamination or bad cooking.

Keywords: *E. coli* O157: H7, food, water

RESUMEN

Los alimentos como la carne molida de vacuno, queso, jamón y lechuga son de alta demanda de consumo por la población y son susceptibles de contaminación. Así mismo, las aguas de los ríos son usadas por pobladores de las riberas. En nuestro medio, no contamos con reportes sobre estudios de vigilancia de *E. coli* O157:H7 en muestras de aguas del río Rímac este, ni en alimentos en los mercados de Lima. Para la evaluación de alimentos se procedió como lo describe Feng & Weagant (2002) y para aguas se utilizó 150 mL de la muestra con 150 mL de TSBm doble concentrado e incubado a 37°C por 18 h y transferido a agar Mac Conkey e incubado a 37°C por 24 h. Se seleccionaron 5 colonias lactosa positiva por muestra e identificadas como *E. coli*, así como su incapacidad para utilizar el sorbitol y la determinación del antígeno somático O157 y el flagelar H7, confirmando *E. coli* O157:H7. De las 309 muestras de alimentos, 82 lechugas, 76 quesos, 76 jamón y 75 de carne molida, procesadas, 187 resultaron positivas para *E. coli* (60,5%), correspondiendo a 47 provenientes de lechugas, a 60 de queso fresco, a 48 de jamón y a 32 de carne molida; mientras que de las 75 muestras de aguas de río procesadas, 36 resultaron positivas para *E. coli* (48%). De 223 cultivos de *E. coli* evaluados, cinco (5) cultivos fueron positivos para *E. coli* O157:H7, correspondiendo a 2 de lechugas (2,4%) y 3 de carne molida (4%). No se detectó *E. coli* O157:H7 en muestras de aguas, jamón y queso. La lechuga puede representar un alimento de alto riesgo en la transmisión de *E. coli* O157:H7 al hombre, seguido de la carne, por contaminación cruzada o por mal cocimiento.

Palabras claves: *E. coli* O157:H7, alimentos, aguas

Artículo de Investigación. Facultad de
Tecnología Médica. Universidad Na-
cional Federico Villarreal. Calle Río
Chepén s/n. El Agustino. Lima - Perú.
Correo electrónico:
cesgueba@ec-red.com

Introducción

El grupo de *Escherichia coli* Enterohemorrágica (ECEH) ha emergido como causal de colitis hemorrágica en humanos. Esta enfermedad se caracteriza por dolor abdominal y diarrea sanguinolenta que puede devenir en una complicación más severa conocida como síndrome urémico hemolítico (SUH). La patogenicidad de ECEH está asociada a un número de factores de virulencia, incluyendo la producción de citotoxinas (Griffin y Tauxe, 1991) que son referidas como verotoxinas o toxina “shiga” (TS) por su similitud a la toxina *Shiga de Shigella dysenteriae* tipo 1. Más de 60 serotipos de *E. coli* producen TS y el serotipo predominante y frecuentemente aislado en este grupo de ECEH es el O157:H7 (en menor proporción O157:NM, variante inmóvil de este serotipo) y su transmisión está asociada, frecuentemente, a los alimentos y aguas contaminadas. Es así que los serotipos O157: H7 son la mayor causa de enfermedades transmitidas por alimentos en USA, Canadá y Europa.

En 1998, se observó en Estados Unidos una incidencia de 2,3 por cada 100 000 habitantes (Slutsker, Ries, Maloney, Wells, Greene, Griffin, 1998), pero luego descendió a 1,1 por cada 100 000 habitantes en el 2003 (Centers for Disease Control and Prevention, *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 2005). Sin embargo, esta incidencia se mantuvo en los últimos años e incluso en el 2006 (CDC, MMWR, 2009) reportaron 29 brotes de infecciones por *E. coli* productores de toxina “shiga” (ECTS) contra 24 que se reportaron en promedio entre 2001 y 2005, de los cuales 27 fueron causados por O157, uno por O121 y el último por el serotipo O26, responsable de 592 enfermos (contra 470 que se reportaron en promedio entre el 2001 al 2005). En Alemania (Beutin, Krause, Zimmermann, Kaulfuss y Gleier, 2004) demostraron el aislamiento de cultivos de *E. coli* portadores de toxina “shiga” que correspondía a varios serotipos, siendo el más frecuente el O157:H7.

La notoriedad de los recientes brotes y la severidad de la infección del serotipo

O157:H7 ha estimulado las investigaciones sobre ecología, resistencia antibiótica y factores de virulencia de esta bacteria (Armstrong, Hollingsworth y Morris, 2006). Las infecciones transmitidas por alimentos del serotipo O157:H7 han estado siempre asociados con el consumo de productos bovinos. Sin embargo, varios brotes recientes han comprometido a otros alimentos y a las aguas superficiales.

La creciente preocupación acerca de la transmisión de microorganismos patógenos por los alimentos lleva a la necesidad de controlar toda la cadena alimentaria, desde el producto primario hasta el consumidor, observándose especialmente a las carnes, quesos, embutidos y a los productos frescos, que son consumidos con una preparación mínima o producidos de manera artesanal.

El agua de riego o de río, en particular, constituye una vía importante de contaminación para los productos frescos (Wachtel, Whitehand y Mandrell, 2002). La detección fiable de organismos patógenos en los productos alimenticios y el seguimiento de estos ayudará a la prevención de brotes de enfermedades asociadas con aguas y alimentos contaminados.

Los brotes de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico ocurridos en 1982 en los Estados Unidos (Riley, Remis, Helgeson, McGee, Wells, Davis, 1983) se asocian a los alimentos, especialmente a las hamburguesas (CDC-MMWR, 1993) como transmisor de *E. coli* productores de verotoxinas o toxina “shiga”. Asimismo, esta toxoinfección se ha relacionado con el consumo de lechuga (Ackers, Mahon, Leahy, Goode, Damrow, Hayes, 1998), aguas (Olsen, McKee, Fox, Bibb y Mead, 2002), carne de res (Radu, Mutalib, Rusul, Ahmad, Morigaki, Asai, 1998), leche cruda y productos lácteos (Wells, Shipman, Greene, Sowers, Green, Cameron, 1991), siendo estos últimos considerados como reservorios naturales. A inicios de 1993, el serotipo O157:H7 recibió considerable atención después de un gran brote por consumo de hamburguesas contaminadas,

mal cocidas, servidas en un restaurante de comida rápida; se registraron más de 700 personas infectadas en cuatro estados, con 51 casos de SUH y cuatro decesos, tal como fue reportado por el CDC en 1993; esto ha permitido aumentar el interés, la vigilancia y despertar la atención de médicos, microbiólogos y consumidores. Quince brotes adicionales se registraron en 1993 y veinte en el primer semestre del año 1994 y así como sucesivos casos se han dado en los últimos años por consumo de hamburguesas mal cocidas, señalados en un estudio por Slutsker et. al. (1998) y de lechugas, publicado por Ackers et. al. (1998).

Luego de una visita a una granja lechera en Pensilvania y Washington durante el año 2000 (Gage , Crielly , Baysinger, Chernak, Herbert y Johnson-Entsuech ,2001), reportaron que 56 personas presentaron fiebre, vómitos y diarrea, algunos con sangre y solo una con sintomatología del SUH. Se aisló las heces de 15 de ellas, *E. coli* O157:H7. Las cepas aisladas tuvieron el mismo patrón de PFGE (tipificación molecular por electroforesis en gel en campo pulsante) y produjeron Verotoxina 1 (TS1) y Verotoxina 2 (TS-2). Ante eso se evaluaron 216 muestras de heces de ganado vacuno de dicha granja, de los cuales 28 presentaron *E. coli* O157:H7, cuyo patrón PFGE fue similar a la de las cepas aisladas desde los pacientes.

Las ferias agrícolas donde se exhiben ganado (vacuno, porcino, caprino, ovino) juegan papel importante en la prevalencia de *E. coli*O157:H7 productores de toxina “shiga” y su persistencia en el medio ambiente por varios meses (Keen, Wittum, Dunn, Bono, y Durso ,2006). Adicionalmente, (Rosser, Dransfield, Allison, Hanson, Holden, Evans,2008) han reportado la emergencia de una variedad inmóvil del serotipo O157 capaz de fermentar el sorbitol (característica inusual en la variedad móvil, O157:H7).(Bhat,Denny, MacDonald, Hofman , Jain , y Lynch ,2007) reportaron cuatro casos de infección por *E. coli* O157:H7 asociado al consumo de leche cruda en Oregon, Estados Unidos, mientras que (Grant, Wendelboe ,Wendel , Jepsen , Torres , Smelser ,2008) presentaron

la investigación sobre un brote sucedido en los estados de Utah y Nuevo Mexico, causado por *Escherichia coli* O157:H7, en 22 pacientes (caso-control) que consumieron espinaca embolsada, desde donde se aisló la bacteria (en tres de ellas de una misma marca) y a nivel nacional, 205 personas enfermaron con la cepa del brote. *E. coliserogrupo* O157:H7 fue demostrado en un estudio realizado en carnes de ganado vacuno en un camal de Lima (Guerrero C., Guillén A., Rojas R. y Meza R. ,2002) aislándose 2 cultivos sorbitol negativo, desde 80 muestras estudiadas. Sin embargo, solo una de ellas, a través de la prueba de PCR, demostró poseer la secuencia genética que codifica la verotoxina.

Se ha reportado brotes de diarreas por *E. coli* productores de toxina shiga, transmitidos por aguas de regadío y la subsecuente contaminación a los alimentos (Wachtel, Whitehand y Mandrell ,2002) , así como también por agua de consumo, como la ocurrida en Estados Unidos en 1998, asociada con el serotipo O157:H7 (Olsen, McKee , Fox, Bibb y Mead ,2002) y también con el serotipo O121:H19, con la TS-2 (Tarr, Large, Moeller , Lacher , Tarr , Acheson, 2002). En Argentina, (Tanaro, Lound y Domínguez , 2006), reportaron el aislamiento de cultivos de *E. coli* O157H7 desde aguas de río, pues el agua ha sido asociada a brotes o casos aislados de enfermedades causadas por *E. coli* O157H7 (Bopp, Brenner , Fields, Wells y Strockbine ,2003) .

El agua se considera también un vehículo potencial en la contaminación de hortalizas, donde especialmente la lechuga ha sido comprometida (Wachtel et. al. 2002), constituyéndose en un problema de salud pública latente. Las aguas superficiales, como las de los ríos que bañan las comunidades son usadas por los pobladores para sus actividades domésticas diarias y dan lugar a una constante contaminación, más aún si los desechos o las aguas servidas son arrojados en su lecho, transformándose en una fuente importante de transmisión y diseminación de bacterias patógenas hacia el hombre. Últimamente, en Alemania,

se presentó la ocurrencia de un brote con cuatro casos fatales donde *E. coli* enteroagregativa serotipo O104:H4, productor de toxina “shiga” estuvo implicado (Scheutz, Møller, Friemodt-Møller, Boisen, Morabito, Tozzoli, 2011).

Al margen del aislamiento de *E. coli* O157:H7 productor de verotoxina, reportado por (Huapaya, Huguet, Suárez, Torres, Montoya, Salazar, 2001), en nuestro país, en un caso de diarrea disentérica, no se han dado infecciones de consideración causados por algún serotipo de *E. coli* Enterohemorrágico, como ya han reportado desde Chile (Prado, 1995), Argentina (Rivas, Voyer, Tous, Leardini, Mena, Wainsztein, 1993) y en Brasil (Guth, López de Souza, Vaz e Irino, 2002). Pero estamos a expensas de que pueda ocurrir en algún momento, lo que obliga a persistir en la investigación de este microorganismo para contribuir a la prevención de un eventual brote, *E. coli* serotipo O157:H7, a diferencia del resto de cultivos de esta misma especie, que no utilizan el sorbitol y no poseen la enzima glucoronidasa (Ratnam, March, Ahmed, Bezanson y Kasatiya, 1988), características que son aprovechadas para su identificación presuntiva y ser confirmada con la prueba serológica.

La notoriedad de los recientes brotes y la severidad de las infecciones por el serotipo O157:H7 ha estimulado la investigación del microorganismo, su ecología, la resistencia antibiótica y sus factores de virulencia. Los estudios realizados sobre *E. coli*, productor de verotoxinas nos da una idea del problema latente de esta variante patógena de *E. coli*, como el O157:H7. En nuestro medio no contamos con reportes sobre algún brote de colitis hemorrágica o síndrome urémico hemolítico, excepto el aislamiento de un caso de diarrea disentérica en un niño, en Tacna, como lo reporta Huapaya et al. (2001).

Por la gravedad de la enfermedad, capaz de causar esta variante patógena de *E. coli* es preciso plantear un programa de vigilancia y prevención, estudiando el posible peligro de contaminación de algunos alimentos más sus-

ceptibles, como las carnes, productos lácteos, verduras y aguas que al ser consumidos crudos o mal cocidos por el hombre puedan ocasionar algún brote de impacto en nuestra sociedad, que después tengamos que lamentar. Por lo expuesto, resulta necesario examinar muestras de alimentos, como la carne molida de vacuno, jamón, lechuga y aguas, con la finalidad de tomar medidas necesarias de salud pública para reducir el riesgo de infección y prevenir la ocurrencia de algún brote.

Los alimentos como la carne molida de vacuno, queso, jamón y lechuga tienen elevada demanda de consumo en la población y son susceptibles a contaminación; ya que son producidos, cosechados y transportados, por lo general, artesanalmente. Así mismo, las aguas de los ríos son usadas por los pobladores de las riberas en sus diversas actividades diarias.

En nuestro medio, no contamos con reportes sobre estudios de vigilancia de *E. coli* O157:H7 en muestras de aguas de río y de alimentos como la carne molida, queso, jamón y lechugas de expendio en los principales mercados de Lima. Surge la pregunta: ¿O157:H7 estará contaminando las aguas del río Rímac y los alimentos como carne molida, quesos, jamón y lechuga de los mercados de Caquetá y La Parada? Por lo tanto, es necesario examinar estas muestras en la búsqueda del mencionado organismo patógeno para el hombre, planteándose la hipótesis de que, efectivamente, O157:H7 se encuentra contaminando el agua del río Rímac y estos alimentos de mucha demanda en nuestra comunidad y que estos, a su vez, son un medio importante en la transmisión de la bacteria.

La infección intestinal causada por los cultivos patógenos de *E. coli* es una de las más frecuentes en nuestro medio. Afecta preferentemente a los niños (Beutin L., et.al., 2004), causando diarreas sanguinolentas, en algunos casos, con la consecuente deshidratación, desnutrición y poniendo en riesgo la vida, especialmente si la causa es un serotipo como el

O157:H7, que generalmente podría ser transmitido por aguas y/o alimentos (Bhat, Denny, MacDonald, Hofman, Jain, y Lynch, 2007; Werber, Beutin, Pichner, Stark, y Fruth, 2008). La detección fiable de microorganismos patógenos como *E. coli* O157:H7 en las aguas de río y en los productos alimenticios y el seguimiento de estos ayudará a la prevención de brotes causados por esta bacteria.

En estudios previos, realizados en lechugas, quesos y jamón (Guerrero et al, 2003), se pudo observar una alta contaminación en estos alimentos por *E. coli* y se detectaron algunos serogrupos patógenos de esta bacteria, estableciéndose la posibilidad que el serotipo O157:H7 podría ser uno más de estos. La presencia de esta bacteria en las aguas de río y alimentos como la carne molida de vacuno, queso, jamón y lechugas permitiría precisar el grado de riesgo al que estaría expuesta nuestra comunidad, principalmente los niños, y establecer una vía de transmisión importante, considerando el grado de contaminación de estos productos y las condiciones inadecuadas de salubridad e higiene en la producción artesanal y expendio de muchos alimentos, de manera común en nuestro medio, considerándose como un aspecto importante la vigilancia y monitoreo de esta bacteria, para evitar la posibilidad de emerger como causa de algún brote epidémico y comprometer la salud de la comunidad más expuesta que es, por lo general urbano marginal, contribuyendo al conocimiento en salud pública respecto de la cadena epidemiológica de la infección, donde *E. coli* O157:H7 puede ser transmitido por el agua del río Rímac y los alimentos mencionados.

Por ello, planteamos como objetivo la determinación de la presencia de *E. coli* O157:H7 como contaminante de alimentos y aguas de río en la ciudad de Lima, tratando de establecer el riesgo potencial de las aguas del río Rímac y los alimentos de expendio en los mercados como posibles transmisores de *E. coli* O157:H7 hacia el hombre.

Método

Es un estudio de tipo prospectivo y descriptivo, basado en la detección del microorganismo en los alimentos de expendio en los mercados de Lima y en aguas del río Rímac, zona de Huachipa.

Participantes:

- a. **Ámbito temporal y espacial:** son el Mercado de Caquetá (San Martín de Porres) y el Mercado Central, La Victoria, en la ciudad de Lima; así como también las aguas de río Rímac, zona este, Huachipa.

Se procesaron 75 muestras de aguas de río, 70 de carne molida, 80 de queso, 70 de jamón y 70 de lechugas, realizadas entre los meses de abril a octubre del 2011. El procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de la Facultad de Tecnología Médica (El Agustino).

- b. **Universo:** son los alimentos de expendio en los mercados de Lima, como la carne molida de vacuno, quesos, jamón y lechuga; así como las aguas del río Rímac este.
- c. **Unidades de análisis:** carne de vacuno molida (100 g); queso fresco (100 g), jamón (100 g), lechuga (una cabeza) y agua de río (300 ml).
- d. **Criterios de inclusión:** producto fresco, con ingreso en el día, en los mercados mencionados; así como aguas de río tomadas en el día.
- e. **Criterios de exclusión:** producto maltratado o no fresco, de ingreso no reciente y aguas con más de 12 horas de muestreadas.
- f. **Método de muestreo:** las muestras fueron tomadas al azar simple. Para los

alimentos se seleccionaron dos puestos de venta por visita y por producto, de los cuales se tomaron una muestra de carne de vacuno molida, una de queso fresco, una de jamón y otra de lechuga (tomándose dos muestras por producto y por visita); mientras que las muestras de aguas fueron tomadas en número de dos y por visita, desde el río Rímac, zona este, Huachipa, a primeras horas de la mañana.

Instrumentos: los materiales y/o reactivos o aparatos indicados líneas abajo fueron los necesarios para la ejecución de la presente investigación, tanto en la recolección o toma de muestra, como en el transporte y procesamiento. Equipos: 1. Balanza 0,1 g - 200 g; autoclave; conservador (caja térmica); vórtex o agitador; micropipetas de 10 a 100 uL; destilador; materiales, soluciones y reactivos: tips o puntas estériles; placas petri; tubos de ensayo 13 x 100 mm, tapa rosca; matraces de 1 L y 500 ml; viales de vidrio; vasos de precipitación Beaker de 500 ml; guantes de látex; gradillas para tubos pipetas de 1 ml, 5 ml y 10 ml; asa bacteriológica; Agar Mac Conkey Sorbitol; Agar Mac Conkey; Caldo Tripticasa de Soya Modificado (TSBm); Caldo Triptosa Fosfato (CTF); Caldo BHI; Agar Triple azúcar Fierro (TSI); Agar Lisina Fierro (LIA); Agar Citrato de Simons; Agar Tripticasa de Soya (TSA); Medio SIM; Medio VP-RM; Bilis de buey; Antisuero para antígeno somático de *E. coli* O157; Antisuero para antígeno flagelar de *E. coli* H:7; glicerol; ice pack; bolsas plásticas estériles; frascos de vidrio boca ancha de 500 ml; viales de polipropileno.

Procedimiento:

- a. **Toma de muestra:** las muestras de los alimentos fueron tomadas el día de la visita por selección al azar simple,

desde los puestos que expenden estos productos en los mercados de Caquetá, San Martín de Porres y en el mercado La Parada, La Victoria, Lima, entre los meses de abril a octubre del 2011.

Se realizaron dos visitas por semana a los mercados, recolectándose dos muestras de cada producto por visita (desde un mismo número de puestos), en bolsas plásticas descartables estériles, debidamente registradas con fecha, hora y procedencia, a razón de 100 g de muestra para carne molida de vacuno; 100 g de queso fresco; 100 g de jamón y una unidad o “cabeza” de lechuga. Mientras que las muestras de agua se tomaron en un frasco boca ancha estéril en volumen de 300 ml, colocándolas a 15 cm por debajo de la superficie del agua y en contracorriente.

Las muestras fueron transportadas inmediatamente al laboratorio, en una caja conservadora con ice-pack para su procesamiento.

b. Procesamiento de muestras:

b.1 Alimentos:

Inoculamos 50 g de muestra del alimento en 450 ml de Caldo BHI, como lo describe Feng y Weagant (2002), homogenizamos en una licuadora con vaso invertido y mantuvimos por 10 minutos a temperatura ambiente con agitación periódica y luego se incubó por 4 h a 37°C.

Transferimos el contenido a un frasco con 450 ml de Caldo Triptosa Fosfato (CTP) e incubamos por 20 h a 44°C±0,2°C. Luego tomamos una asada del cultivo obtenido y sembramos por agotamiento en Agar Mac Conkey (MC) e incubamos a 37°C por 24 h. Seleccionamos al azar 5 colonias lactosa positiva por muestra y las sometimos a pruebas

bioquímicas para la diferenciación e identificación de *E. coli*.

Nota: Para el caso de lechugas usando guantes, cuidadosamente, deshojamos la cabeza del producto, eliminando las hojas externas marchitas o maltratadas y colocamos las hojas en una bolsa plástica estéril hasta alcanzar el peso de 50 g y añadimos diluyente.

b.2 Aguas:

Se tomó 150 ml y añadió a 150 ml de Caldo Tripticasa de Soya con bilis (TSBm) doble concentrado e incubado a 37°C por 18 h. Luego, transferimos una asada del cultivo obtenido y se sembró por agotamiento en un agar Mac Conkey e incubamos a 37°C por 24 h. Seleccionamos al azar cinco colonias lactosa positivas, por muestra y las sometimos a pruebas bioquímicas para la diferenciación e identificación de *E.coli*.

b.3 Detección de cultivos de *E. coli* O157:H7

Luego de haber identificado las colonias aisladas como *E. coli*, tanto desde las muestras de alimentos como de las aguas, se procedió a sembrar en un Agar Mac

Conkey Sorbitol (MCS) para determinar una de las características fenotípicas importantes del serotipo O157:H7, como es la incapacidad para utilizar el sorbitol (aunque hay algunas cepas de este serotipo capaz de usarla).

Desde aquellas colonias que son sorbitol negativas (colonias incoloras) realizamos la prueba de aglutinación para determinación del antígeno somático O157 y el flagelar H7, confirmándose como tal. Los cultivos positivos serológicamente son conservados y almacenados en caldo tripticasa de soya con glicerol, para posteriores estudios con el objetivo de la búsqueda de toxinas “shiga” u otros factores de virulencia.

Resultados

De las 309 muestras de alimentos, 82 lechugas, 76 quesos, 76 jamón y 75 de carne molida, procesados, 187 resultaron positivas para *E. coli* (60,5%), correspondiendo a 47 (47/82) de ellas aisladas desde lechugas, a 60 (60/76) desde queso fresco, a 48 (48/76) desde jamón y a 32 (32/75) desde carne molida; mientras que desde las 75 muestras de aguas de río procesadas, 36 resultaron positivas para *E. coli* (48%), como se describe en la tabla 1.

Tabla 1
Aislamiento de *E. coli* desde muestras de alimentos y agua

| MUESTRAS | MUESTRAS PROCESADAS | <i>E. coli</i> O157:H7 | |
|--------------------|---------------------|------------------------|-------|
| | | n | (%) |
| ALIMENTOS | | | |
| Lechugas | 82 | 2 | (2,4) |
| Queso fresco | 76 | 0 | (0,0) |
| Jamón | 76 | 0 | (0,0) |
| Carne Molida | 75 | 3 | (4,0) |
| Total | 309 | 5 | (1,6) |
| AGUA DE RÍO | | | |
| | 75 | 0 | (0,0) |

Leyenda: n = número de muestras positivas para *E. coli*; (%) = Porcentaje de muestras positivas con *E. coli*

Se aislaron un total de 223 cultivos de *E. coli*, desde las muestras positivas (187 aisladas de alimentos y 36 de las aguas) para este microorganismo, las cuales luego de ser procesadas para determinar las características bioquímicas típicas de *E. coli* O157:H7 y luego las serológicas, resultaron cinco (5)

cultivos positivos para *E. coli* O157:H7, todas ellas provenientes de las muestras de alimentos, correspondiendo a dos desde lechugas (2,4%) y 3 desde carne molida (4%), como se demuestra en la Tabla 2. No se detectaron *E. coli* O157:H7 en muestras de aguas, jamón y queso.

Tabla 2
Muestras de alimentos y aguas positivas para *E. coli* O157:H7

| MUESTRAS | MUESTRAS PROCESADAS | <i>E. coli</i> O157:H7 | |
|--------------------|---------------------|------------------------|-------|
| | | n | (%) |
| ALIMENTOS | | | |
| Lechugas | 82 | 2 | (2,4) |
| Queso fresco | 76 | 0 | (0,0) |
| Jamón | 76 | 0 | (0,0) |
| Carne Molida | 75 | 3 | (4,0) |
| Total | 309 | 5 | (1,6) |
| AGUA DE RÍO | | | |
| | 75 | 0 | (0,0) |

Leyenda: n = número de muestras positivas para *E. coli*; (%) = Porcentaje de muestras positivas con *E. coli*

Discusión

De acuerdo a nuestros resultados, podemos observar una elevada contaminación de los alimentos evaluados por *E. coli*, especialmente el queso fresco (79%) y el jamón (63%) lo que nos demuestra las condiciones en la que estos productos son producidos, probablemente sin cuidados de salubridad y con una práctica inadecuada de manipulación y cuyo expendio se manifiesta masivamente en los principales mercados de Lima, como los que fueron objeto de este estudio. El nivel de contaminación observado en los quesos se debería a que es elaborado de manera artesanal, a partir de leche cruda, la que suele contaminarse con coliformes provenientes de las heces del ganado.

Los embutidos, como el jamón, a pesar de tener una etapa de cocimiento y tratamiento

con preservantes también son producidos artesanalmente, en condiciones insalubres y de manipulación excesiva. La presencia de *E. coli* en estos dos productos es inaceptable dado que son de consumo directo (consumo sin tratamiento previo), más aún si son destinados a la población infantil, haciendo presumir la posibilidad potencial de transmitir alguna de las *E. coli* enteropatógena, como lo señalamos en un estudio previo (Guerrero et. al., 2003). La lechuga es otro producto de consumo masivo y directo que presenta contaminación elevada por *E. coli* (57%), resultado de la característica de planta de tallo corto con cercanía al suelo y por el uso de aguas servidas y/o contaminadas para su regadío, muy común en los campos de cultivo de la zona de producción. Estos niveles de contaminación de *E. coli* se mantienen entre esos productos,

comparados con estudios anteriores realizados en esos mismos mercados (Guerrero y col., 2002; Guerrero y col., 2003).

En nuestro estudio se ha detectado la presencia de *E. coli* O157:H7 en muestras de carne molida en tres casos, que representa el 4%, superior a lo reportado por Varela et. al. (2008), quienes señalan el aislamiento del 1,8% de *E. coli* O157:H7 desde muestras de carne picada en Uruguay. Sin embargo, la presencia de *E. coli* serogrupo O157:H7, fue demostrada en un estudio realizado en carnes de ganado vacuno en un camal de Lima (Guerrero et. al., 2002) aislándose 2 cultivos con sorbitol negativos, desde 80 muestras estudiadas (4%), porcentaje similar a lo encontrado en el presente estudio. Otro de los productos donde detectamos la presencia de

E. coli O157:H7 fue en dos casos en las lechugas que representa al 2,4 de las muestras evaluadas de este producto. A pesar de no contar con datos similares de aislamientos de este microorganismo en lechugas, este producto es un sustrato predilecto para *E. coli* O157:H7, como lo señalan Wachtel et. al., (2002) y es un transmisor importante de esta bacteria para el hombre (Ackers et. al, 1998).

Podemos concluir que la lechuga por ser un producto de consumo directo puede representar el alimento más importante y de alto riesgo de transmisión de *E. coli* O157:H7 al hombre, seguido de la carne, por ser consumida con tratamiento previo, pero por contaminación cruzada o por mal cocimiento puede aumentar el riesgo de este producto como transmisor potencial para *E. coli* O157:H7.

Referencias

- Ackers M., Mahon B., Leahy E., Goode B., Damrow T., Hayes P. (1998). An Outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 Infections Associated with Leaf Lettuce Consumption. *The Journal of Infectious Diseases*, 177, 1588-1593.
- Armstrong G., Hollingsworth J. y Morris G. (1996). Emerging Foodborne Pathogens: *Escherichia coli* O157:H7 as a model of entry of a new pathogen into the food supply of the developed world. *Epidemiologic Reviews*, 18(1), 29-51.
- Beutin L., Krause G., Zimmermann S., Kaulfuss S. y Gleier K. (2004). Characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from human patients in Germany over a 3-year period. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(3), 099-1108.
- Bhat M., Denny J., MacDonald K., Hofman J., Jain S., y Lynch M. (2007) Bhat M., Denny J., MacDonald K., Hofman J., Jain S., y Lynch M. (2007). *Escherichia coli* O157:H7 infection associated with drinking raw milk- Washington and Oregon, November-December 2005. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 56(08), 165-167.
- Bopp, C., Brenner F., Fields, P., Wells, J., y Strockbine N. (2003). *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. En Murray, P.; Baron, E.; Pfaller, M.; Jorgensen, J. y Tenover, R. (Eds.), *Manual of clinical microbiology* (654-671). Washington, D. C., USA: ASM Press.
- Centers for Disease Control and Prevention. (1993). Update: multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections from hamburgers-western United States, 1992-1993. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 42, 258-63

- Centers for Disease Control and Prevention. (2005). Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 Associated with Petting Zoos - North Carolina, Florida, and Arizona, 2004 and 2005. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 54(50), 1277-1280.
- Center for Disease Control and Prevention. (2009). Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks --United States, 2006. *Morbidity and Mortality Weekly Report*; 58(22), 609-615.
- Feng P. y Weagant S. (2002). Diarrheagenic *Escherichia coli*. En U. S. Food and Drug Administration (Ed.), *Bacteriological Analytical Manual*, (4.20-4.25). U.S.A.: AOAC International.
- Gage R., Crielly A., Baysinger M., Chernak E., Herbert G. y Johnson-Entsueh A. (2001). Outbreaks of *Escherichia coli* O157:H7 Infections among children Associated with farm visits –Pennsylvania and Washington, 2000. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 50(15), 293-297.
- Grant J., Wendelboe A., Wendel A., Jepson B., Torres P., Smelser C. (2008). Spinach-associated *Escherichia coli* O157:H7 Outbreak, Utah and New Mexico, 2006. *Emerging Infectious Diseases*, 14(10), 1633-1636.
- Griffin P. y Tauxe R. (1991). The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic E. coli, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiologic Reviews*, 13, 60-98.
- Guerrero C., Guillén A., Rojas R. y Meza R. (2002). *Escherichia coli* Enterohemorrágico (ECEH) en carnes de ganado vacuno. II- FTM – Oficina Central de Investigación-Universidad Nacional Federico Villarreal.
- Guerrero C., Guillén A., Rojas R. y Meza R. (2003). *Escherichia coli* Enteropatógeno (ECEP) en alimentos. II- FTM - Oficina Central de Investigación- Universidad Nacional Federico Villarreal
- Guth B., López de Souza R., Vaz T. e Irino K. (2002). First shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolate from a patient with hemolytic uremic syndrome, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, 8(5), 535-536.
- Huapaya B., Huguet J., Suárez V., Torres Y., Montoya I., Salazar E. (2001). Primer aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 enterohemorrágica en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 18, (1-2), 38-39.
- Keen J., Wittum T., Dunn J., Bono J., y Durso L. (2006). Shiga-toxigenic *Escherichia coli* O157 in agricultural fair livestock, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 12(5).
- Olsen S., McKee G., Fox K., Bibb W. y Mead P. (2002). A waterborne outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections and hemolytic uremic Syndrome: implications for rural water systems. *Emerging Infectious Diseases*, 8(4), 780-786.
- Prado V., Cordero J., Garreaud C., Olguin H., Arellano C., Nachar H., Misraji A. (1995). Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in hemolytic uremic syndrome in Chilean. Evaluation of different technics in the diagnosis of the infection. *Revista Médica de Chile*, 123(1), 13-22
- Radu S., Mutalib S., Rusul G., Ahmad Z., Morigaki T., Asai N. (1998) Radu S., Mutalib S., Rusul G., Ahmad Z., Morigaki T., Asai N. (1998) Radu S., Mutalib S., Rusul G., Ahmad Z., Morigaki T., Asai N. (1998). Detection of *Escherichia coli* O157:H7 in the beef Marketed in Malaysia. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(3), 1153-1156.

- Ratnam S., March S., Ahmed R., Bezanson G. y Kasatiya J. (1988). Characterization of *E. coli* serotype O157:H7. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(10),2006- 2012.
- Riley L., Remis R., Helgerson S., McGee H., Wells J., Davis B.(1983). Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *The New England Journal of Medicine*, 308, 681-685.
- Rivas M., Voyer L., Tous M., Leardini N., Mena M., Wainsztein R. (1993). Hemolytic uremia syndrome. Co-infection with two different serotypes of shiga-like toxin producing *Escherichia coli*. *Medicina*, 53(6),487- 490.
- Rosser T., Dransfield T., Allison L., Hanson M., Holden N., Evans J. (2008). Pathogenic potential of emergent sorbitol-fermenting *E. coli* O157:NM. *Infection and Immunity*, 76(12),5598-5607.
- Scheutz F., Møller E., Frimodt-Møller J., Boisen N., Morabito S., Tozzoli R. (2011). Characteristics of the entero aggregative Shiga toxin/verotoxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uremic syndrome in Germany, May to June 2011. *Eurosurveillance* 16(24), 1-6.
- Slutsker L., Ries A., Maloney K, Wells J., Greene K. D., Griffin P. (1998). A Nationwide Case-Control Study of *Escherichia coli* O157:H7. Infection in the United States. *The Journal of Infectious Diseases*,177, 962-966.
- Tanaro J., Lound L. y Domínguez M. (2006). Detección de *E. coli* O157H7 en aguas abiertas, heces y rumen de bovinos en las proximidades de casco urbano. *Ciencia Docencia y Tecnología*. 32, 207-218.
- Tarr C., Large T., Moeller C., Lacher D., Tarr P., Acheson D., et al. (2002). Molecular Characterization of a serotype O121:H19 clone, a distinct shiga toxin-producing clone of pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 70(12), 6853-6859
- Varela G., Chinen I., Gadea P., Miliwebsky E., Mota M.I., González S. (2008). Detección y caracterización de *E. coli* productor de toxina shiga a partir de casos clínicos y de alimentos en Uruguay. *Revista Argentina de Microbiología*, 40, 93-100.
- Wachtel M., Whitehand L. y Mandrell R. (2002). Association of *E. coli* O157:H7 with preharvest leaf lettuce upon exposure to contaminated irrigation water. *Journal of Food Protection*, 65(1), 18-25.
- Wells J., Shipman L., Greene K., Sowers E., Green J., Cameron D. (1991). Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga-like-toxin-producing *E. coli* from dairy cattle. *Journal of Clinical Microbiology*, 29, 985-989.
- Werber D., Beutin L., Pichner R., Stark K., y Fruth A. (2008). Shiga Toxin- producing *Escherichia coli* Serogroups in Food and Patients, Germany. *Emerging Infectious Diseases*, 14(11), 1803-1806.