

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA  
FACULTAD DE VETERINARIA

***Escherichia coli* O157:H7 PRODUCTORA DE TOXINA SHIGA Y OTRAS  
STEC DE RELEVANCIA EN LA INDUSTRIA CÁRNICA EN URUGUAY**

por

Br. CORONEL LIMA, Elisa Vanir



TESIS DE GRADO presentada como uno de  
los requisitos para obtener el título de  
Doctor en Ciencias Veterinarias  
Orientación: Higiene, Inspección-Control y  
Tecnología de los Alimentos de Origen Animal

MODALIDAD Revisión Monográfica



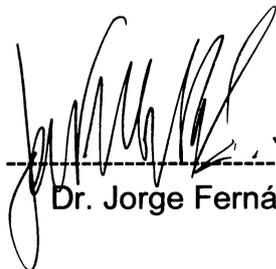
MONTEVIDEO  
URUGUAY  
2011

**PÁGINA DE APROBACIÓN**

TUTOR: Dra. Cristina López

TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de Mesa:

  
-----  
Dr. Jorge Fernández

Segundo Miembro (Tutor):

  
-----  
Dra. Cristina López

Tercer Miembro:

  
-----  
Dr. Julián Bermúdez

Fecha:

16 de diciembre 2011

Autor: Elisa Coronel

  
-----

2  
29277

PA      100      01A  
Aprobado:      11 (once)      42

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi tutora, Dra. Cristina López por su constante disposición y apoyo, tanto en lo académico como lo humano.

A los funcionarios de biblioteca y hemeroteca de Facultad de Veterinaria por su colaboración en la búsqueda bibliográfica, especialmente a Rosina Vilaró.

Al Dr. Héctor Lazaneo, Dra. Dora Martha González y Dra. Vivián Neirotti del Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca por la información brindada que ha sido gran utilidad.

A la Dra. María Pilar Gadea y el Dr. Gustavo Varela del Instituto de Higiene de la Facultad de Medicina por su colaboración y disponibilidad.

A mi hijo Mauro, luz de mis ojos que me da fuerza día a día para lograr todas mis metas.

A mi esposo por su constante apoyo, paciencia y aliento para poder culminar mi carrera.

A mi padre por su incondicional presencia tanto en lo personal como lo académico, quien es una gran guía en mi vida.

A mi madre y hermanos por su apoyo todos estos años y muy especialmente a mi abuela Blanca que ha sido un gran pilar en mi vida.

A mis suegros por su colaboración en el cuidado de mi hijo para que yo pudiera realizar este trabajo.

A mis amigas del alma Lorena, Natalia y Paola por estar siempre en las buenas y las malas.

A todos los compañeros que me han ayudado a lo largo de mi carrera, en especial a Inés Sacchi, quien me brindó su apoyo incondicional desde el primer día y hasta el último.

## **TABLA DE CONTENIDO**

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS .....	3
LISTAS DE CUADROS Y FIGURAS.....	6
RESUMEN .....	8
SUMMARY .....	9
INTRODUCCIÓN .....	10
OBJETIVOS .....	13
PRESENTACIÓN.....	14
<i>Escherichia coli</i> (genérico).....	14
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 .....	17
Clasificación: .....	17
Propiedades: .....	19
Principales características bioquímicas .....	19
Temperatura: .....	20
pH: .....	21
NaCl:.....	21
a <sub>w</sub> : .....	22
Resistencia antibiótica de <i>E. coli</i> O157:.....	22
Otras propiedades: .....	23
Epidemiología:.....	23
Portadores: .....	23
Vías de transmisión: .....	25
Estacionalidad: .....	26
Distribución mundial:.....	27
Patogenia .....	28
Diagnóstico/Aislamiento .....	35
Estrategias de control de <i>Escherichia coli</i> .....	38
Pre-sacrificio.....	38
Post-sacrificio: .....	41
Tratamiento en humanos:.....	43
Recomendaciones generales para la prevención de <i>Escherichia coli</i> O157:H7 .....	44
<i>Escherichia coli</i> no- O157 .....	45
Incidencia a nivel mundial.....	47
Incidencia e Investigación en Uruguay .....	52
Normativa existente en nuestro país.....	53

CONCLUSIONES.....	56
BIBLIOGRAFÍA .....	57
ANEXOS .....	68
Anexo A:.....	69
Anexo B:.....	74
Anexo C:.....	76

## **LISTAS DE CUADROS Y FIGURAS**

### **CUADROS**

Cuadro I: Taxonomía de <i>Escherichia coli</i> .....	7
Cuadro II: Características generales de <i>Escherichia coli</i> .....	8
Cuadro III: Características de la enfermedad relacionada con <i>E. coli</i> .....	9
Cuadro IV: Consecuencias de algunos brotes ECEH.....	10
Cuadro V: Clasificación de serotipos de STEC en seropatotipos.....	12
Cuadro VI: Temperatura óptima y límites de temperatura para el crecimiento de <i>E. coli</i> y <i>E. coli</i> O157: H7.....	13
Cuadro VII: Parámetros limitantes del crecimiento correspondientes a <i>E.coli</i> patógeno.....	14
Cuadro VIII: Características de productos cárnicos fermentados secos al final de los procesos de fermentación y desecación en los que sobrevivió <i>E. coli</i> O157:H7.....	15
Cuadro IX: Principales alimentos vehiculizadores de <i>E. coli</i> O157 (EE.UU).....	18
Cuadro X: Interpretación de resultados .....	30
Cuadro XI: Comparación entre ECEH O157 y ECEH no-O157.....	38
Cuadro XIII: Serotipos aislados en distintos brotes de ECEH en EEUU.....	39
Cuadro XIV: Principales brotes asociados a infección por <i>Escherichia coli</i> no-O157 productor de toxina Shiga en el mundo.....	40

Cuadro XV: Principales brotes asociados a <i>Escherichia coli</i> O157:H7.....	42
---	----

## **FIGURAS**

Figura I: Vías de transmisión.....	19
Figura II: Efecto de la estación del año.....	20
Figura III: Distribución mundial de <i>Escherichia coli</i> .....	21
Figura IV: Mecanismo de patogenia de <i>Escherichia coli</i> , productor de toxina Shiga Lesión A/E.....	22
Figura V: Mecanismo de patogenia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7, productor de toxina Shiga.....	25
Figura VI: Comparación de tasas de incidencia SUH.....	27
Figura VII: Test Reveal.....	31

## RESUMEN

( FAI )

*Escherichia coli* O157:H7 productora de toxina Shiga es uno de los microorganismos patógenos emergentes más relevantes de los últimos años, es responsable de casos individuales y brotes de enfermedades transmisibles por alimentos (ETA); con serias consecuencias en la salud pública. Sus principales síntomas son colitis hemorrágica, púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) y síndrome urémico hemolítico (SUH), pudiendo llegar a la muerte del paciente, afectando principalmente a niños y ancianos; con un periodo de incubación de 3 a 8 días promedio. Su principal reservorio es el bovino y en consecuencia la carne, especialmente la carne picada su mayor vía de transmisión.

Se han desarrollado estrategias para disminuir la prevalencia tanto a nivel de campo como en la industria donde el retiro del cuero y el eviscerado son los puntos críticos más importantes. No existe tratamiento efectivo en humanos por lo que se aplica tratamiento sintomático.

En Uruguay no se han registrado brotes pero sí casos individuales de enfermedad causada por este patógeno, si bien no es agente frecuente de diarrea en niños, se ha reconocido que *Escherichia coli* de los serogrupos O157, O111, O26 y O145 son los de mayor prevalencia. La investigación en nuestro país respecto a este microorganismo ha sido realizada principalmente por el Instituto de Higiene de la Facultad de Medicina, Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) y el Instituto Nacional de Carnes (INAC).

La normativa en nuestro país respecto a *Escherichia coli* O157 es escasa; por parte de MSP se la incluyo en el listado A de denuncia obligatoria y la regulación a nivel industrial a cargo del MGAP está basada en el Programa de control de *Escherichia coli* O157:H7 en carne bovina cruda en recortes (trimming) y/o carne sin hueso que puedan destinarse a preparar carne picada, producida en establecimientos habilitados para exportar a los Estados Unidos de América (EEUU); dicho programa se realizó en función de los requisitos exigidos EEUU, ya que este es uno de nuestros principales países destino de exportación de carne bovina.

En vista de la gravedad de la enfermedad y sus consecuencias en humanos, así como los serios problemas económicos y dificultades comerciales que podrían resultar de comercializarse carne contaminada con *E. Coli* O157; entendemos que es de gran importancia la investigación, difusión, prevención y control de *Escherichia coli* O157:H7 y otras STEC en nuestro país.

## **SUMMARY**

*Escherichia coli* O157:H7, which produces Shiga Toxin and considered as being one of the most relevant emerging microorganisms in recent years, has been responsible in individual cases and also in outbreak of diseases which are transmissible by food (ETA), leaving serious consequences to the public's health.

Principal symptoms are hemorrhagic colitis, thrombotic thrombocytopenic purpura (PTT), and hemolytic uremic syndrome (SUH), it may cause a patient's death, it mainly affects the children and elderly age groups with an incubation period averaging anywhere from 3 to 8 days. The main reservoir is cattle and in consequence beef, especially ground beef, as this is the major transmission channel.

Strategies have been developed to diminish the prevalence, for rural establishments as well as for the industrial sector where the skinning and gutting are the most important critical points. There is no effective treatment for humans, symptomatological treatment is applied.

Although outbreaks have not occurred in Uruguay individual cases have been registered, and even though it is not a frequent agent in children's diarrhea, it has been recognized that the *E. coli* serogroups O157, O111, O26, and O145 are the most prevalent. Investigations regarding this microorganism in Uruguay have mainly been done by the Institute of Hygiene at the Medical University, the Ministry of Agriculture Livestock and Fishing (MGAP) and the National Beef Institute (INAC).

The norms in Uruguay in respect to *E. coli* O157 is limited, by an MSP mandate it was included into their A-List.

Regulations on an industrial level, which the MGAP is in charge of, is based on the *E. coli* O157:H7 control program for beef cuts and trims and /or boneless meat that may be destined for ground beef, produced in habilitated establishments for exports to the USA, the program was based in order to meet the prerequisites as required by US export standards, since this is one Uruguay's principal beef export destinations.

Due to the disease's severity and its consequences on humans, as well as economical problems and commercial difficulties which may result from commercializing beef contaminated with *E. coli* O157, we believe that the investigation, diffusion, prevention and control of *E. coli* O157: H7 and other STEC in Uruguay are of great importance.

## INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las ETA (Enfermedades Transmitidas por Alimentos) constituyen uno de los problemas de salud más relevantes, tanto en los países desarrollados, como en los países en vías de desarrollo. Cada año, la OMS recibe informes sobre la ocurrencia de cientos de casos de ETA en todo el mundo, siendo los más frecuentes los ocasionados por alimentos que sufrieron contaminación biológica (WHO, 1997).

Las ETA se definen como: “el conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos (por ejemplo: bacterias o parásitos) o no biológicos (por ejemplo: plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afecten la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupos de personas” (Rey, 2005).

La OMS estima que cada año se producen 1.500 millones de episodios de diarrea que ocasionan unos 3 millones de muertes en menores de 5 años. Se calcula que, dependiendo de los países, del 15 al 70% de esos casos son causados por alimentos contaminados (WHO, 1997).

Las ETA provocadas por alimentos contaminados constituyen el mayor peligro actual para la salud a nivel internacional, dado que los productos alimenticios representan la fuente principal de riesgo respecto a agentes químicos y biológicos, y afectan a todos los países prescindiendo de su nivel de desarrollo (Hammer, 1999).

Como claro ejemplo de lo antes mencionado está el caso de EEUU (Estados Unidos de América) siendo un país desarrollado y potencia mundial; el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EE.UU., estima que 76 millones de personas por año sufren ETA en ese país, 325.000 personas son hospitalizadas y 5.000 mueren. Por lo tanto, las ETA tienen un importante impacto social y económico; expertos en salud estiman que sólo en los Estados Unidos el costo anual de todas las ETA es de 5 a 6 billones de dólares (Lewys y col, 2002).

Estas se pueden presentar en tres diferentes maneras: infecciones causadas por alimentos (se producen por la ingestión de alimentos con microorganismos vivos), intoxicaciones causadas por alimentos (suceden cuando las toxinas producidas por bacterias o mohos están presentes en el alimento ingerido) y el concepto clásico de toxiinfección alimentaria (T.I.A) en el cual se ingiere el agente vivo y este produce toxinas una vez dentro del organismo (Doyle, 2001).

Dentro de las toxiinfecciones alimentarias más relevantes de los últimos tiempos se encuentra la causada por la cepa patógena perteneciente al grupo de las *E. coli* ECEH (enterohemorrágicas): *Escherichia coli* O157: H7 (y otras cepas productoras de toxina Shiga).

En los últimos 20 años, *Escherichia coli* O157: H7 (Enterohemorrágica, ECEH) ha sido considerado como un patógeno emergente de gran impacto en la salud pública. Esta bacteria ha sido identificada como una cepa causante de enfermedades transmitidas por alimentos a nivel mundial, principalmente por alimentos de origen bovino (Narváez Bravo, 2007).

A nivel internacional, *Escherichia coli* O157:H7 y *Listeria monocytogenes*, asociados a hamburguesas y carnes listas para consumir, respectivamente, han sido dos de los patógenos que mayor atención han recibido por parte de la investigación debido a la alta probabilidad de causar serios problemas en la salud de los consumidores (Rovira, 2006).

Hay más de 200 cepas de *E. coli* O: H de las cuales O157, O145, O111, O103 y O26 se reconocen como ECEH clásicas distribuidas mundialmente y en nuestro país (Gadea y col., 2009).

En el corriente año la cepa de *Escherichia coli* O104 productora de toxina Shiga ha sido causante de un gran brote originado en Alemania y luego diseminado por países de Europa donde hubo centenares de afectados, con más de 50 muertes y aún no han establecido con claridad el origen; todo indicaría que es de origen vegetal (Instituto Robert Koch, 2011).

En nuestro país producto de los controles e investigaciones que se vienen realizando en el Departamento de Higiene de Facultad de Medicina y el Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) se ha confirmado su presencia en nuestro medio (Gadea y col., 2009).

En el periodo 1993-2002, los agentes biológicos reportados en Uruguay responsables de enfermedades transmitidas por carnes rojas fueron *Escherichia coli* O157:H7 y otras STEC, *Staphylococcus*, *Salmonella spp*, *Shigella spp*, y *Clostridium perfringens* (Guía VETA, 2001).

La industria de la carne bovina es muy importante en nuestro país; representando el 6% del PBI. Uruguay a pesar de su limitada escala (mundialmente representa 1% de la producción y 5% de las exportaciones), es el 7<sup>mo</sup> exportador de carne bovina, el 70% de lo producido se exporta. A pesar de ello hoy es el número uno en el mundo en consumo per cápita de carne bovina con 61 kg/persona/año Instituto Nacional de Carnes (INAC), 2011. El último informe de INAC sobre consumo interno, señala la carne picada como el principal producto cárnico de consumo en nuestro país representando el 90% (Costas, 2010), siendo esta la principal vía de transmisión de la enfermedad.

Uno de nuestros principales destinos exportación ubicándose en tercer lugar es el NAFTA (North American Free Trade Agreement) integrado por México, Canadá y EE.UU (INAC, 2011). Siendo este último uno de los países más afectados por esta ETA debido a la elevada prevalencia de *E. coli* O157, habiendo padecido numerosos brotes con gravísimas consecuencias. Esto ha llevado a que este país realizara modificaciones en su legislación alimentaria y en consecuencia la exigencia de las mismas a sus países exportadores entre ellos Uruguay.

En nuestro país existen normas del MGAP que hacen referencia a la inclusión obligatoria de este microorganismo dentro de la rutina de los análisis microbiológicos en los frigoríficos habilitados a exportar a EEUU ( más del 90% de los frigoríficos de nuestro país), siendo además incluido en el plan HACCP (Comunicación personal, Dra. Dora Martha González, 2011).

El control de la *Escherichia coli* O157:H7 debe ser la prioridad en la ganadería y la investigación, ya que en el futuro será la principal traba de las exportaciones de carne. Dicha afirmación fue planteada por el doctor Mick Bosilevac, investigador principal en inocuidad de carnes del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, que considera que la bacteria será, en el futuro, la principal limitante mundial de las exportaciones de carne. Bosilevac remarcó que la *E. coli* O157:H7 puede provocar “pérdidas productivas, comerciales y puede ocasionar muertes en humanos” (Bosilevac, 2011).

Visto la estrecha relación económica y cultural de nuestro país con la carne bovina y ante las evidencias de la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 en Uruguay, podemos decir que el riesgo de que se produzcan casos individuales o brotes en nuestro país está presente. Además del riesgo y las graves consecuencias económicas que resultarían de llegar a exportarse carne contaminada por *E. coli* O157. Por lo que entendemos de gran importancia la investigación, difusión, prevención y control de la *Escherichia coli* O157: H7 productora de toxina Shiga y otras STEC en nuestro país.

## **OBJETIVOS**

- Realizar un relevamiento de la información existente sobre *Escherichia coli* enterohemorrágica productora de toxina Shiga.
- Recopilar las Normativas vigentes en nuestro país sobre *Escherichia coli* O157:H7 para la industria cárnica en los últimos 10 años.
- Presentación de datos sobre la incidencia e impacto de la toxina Shiga causante del Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) en nuestro país y el mundo.

## PRESENTACIÓN

### ***Escherichia coli* (genérico)**

*Escherichia coli*; es el microorganismo más estudiado en la microbiología; fue descubierto por el doctor alemán Theodor Von Escherich (1857-1911) en honor del cual el organismo fue denominado definitivamente. Fue pionero en la medicina pediátrica y dedicó sus esfuerzos para mejorar el cuidado de niños, particularmente en la higiene y nutrición infantil. En el año 1860 el doctor Escherich, aisló el género originalmente designado como *Bacterium coli*, "bacteria del intestino" (Oquendo, 2006), del griego κολον, *kolon*, "intestino" en la familia *Enterobacteriaceae* que posteriormente pasó a nombrarse *Escherichia coli* (Wikipedia, 2010).

### **Cuadro I: Taxonomía de *Escherichia coli***

Dominio	<i>Bacteria (Eubacteria)</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Clase	<i>Gamma proteobacterias</i>
Orden	<i>Enterobacteriales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Genero	<i>Escherichia</i>
Especie	<i>E. coli</i>

Fuente: Prescott y col., 2004.

Esta bacteria forma parte de la microflora anaerobia facultativa normal del tracto intestinal de humanos y animales (Dey, 2007) y es un microorganismo muy utilizado como indicador de calidad higiénica por contaminación fecal en agua y alimentos (Lound, 2007).

La presencia de esta bacteria en el intestino es necesaria para un desarrollo normal y para la salud de las personas. *E. coli* y otras bacterias entéricas sintetizan la vitamina K y vitaminas del complejo B que el cuerpo absorbe. A pesar de que el intestino es el hábitat normal de estas bacterias, éstas pueden vivir fuera del mismo en ambientes contaminados con materia fecal como el agua o la tierra. Bajo estas circunstancias la presencia de la bacteria sirve como indicador de contaminación fecal (Jay, 2002).

Son bacilos Gram negativos rectos, con un diámetro de 0,5 a 2 micras. Si son móviles, presentan flagelos peritricos (Pulsenet). No forman esporos y se desarrollan en presencia o en ausencia de oxígeno (aerobios-anaerobios facultativos). Se pueden desarrollar rápidamente en medios simples, no siendo exigentes desde el punto de vista nutricional (Algorta y col., 2008).

En general no producen enfermedad pero existen algunos tipos patógenos de *E. coli* que pueden producir toxiinfección alimentaria y serios problemas digestivos y otros de localización no digestiva, como el aparato urinario (SUH) y el sistema nervioso (meningitis). Es causante frecuente de diarrea en viajeros, lactantes y niños pequeños en épocas veraniegas (Rey, 2005) y purpura trombótica trombocitopénica (PTT) (Bell, 1998).

**Cuadro II: Características generales de *Escherichia coli***

<b>Morfología y tinción</b>	<b>Bacilos Gram -</b>
Movilidad	(+) Peritricos
Relación con el O <sub>2</sub>	Aerobios – Anaerobios facultativos
Requerimientos nutricionales	No exigentes
Medio OF	F
Catalasa	+
Oxidasa	-
Nitritos y Nitratos	+
Glucosa	+ AG
Lactosa	(+) AG
Arabinosa	+ AG
RM	+
VP	-
KCN	-
Citrato	-
Acetato	+
Ureasa	-
H <sub>2</sub> S	-
Fenilalanina	-
Indol	+
Lisina decarboxilasa	(+)

(+) = mayoría de cepas positivas

Fuente: Acuña y col., 2002.

En base a los síndromes, características de la enfermedad y su efecto en determinados cultivos celulares y en los grupos serológicos, se admiten 5 grupos de virulencia de *E. coli* (Jay, 2002). Estos son: *E. coli* enterotoxigenico (ETEC), *E. coli* enteroagregativo (EAaggEC), *E. coli* enteropatogénico (EPEC), *E. coli* enteroinvasor (EIEC) y *E. coli* enterohemorrágico (EHEC) (Algorta y col., 2008).

A estos 5 grupos de virulencia ya conocidos, profundamente estudiados y presentes en toda la bibliografía debemos agregar *E. coli* adherente e invasivo AIEC vinculada a la enfermedad de Crohn (Gadea y col., 2009). Dentro del grupo (EHEC) encontramos a *E. coli* O157:H7 entre otras cepas como son O26:H11, O103:H2 y O113:H21 (Rey, 2005).

*Escherichia coli* se clasifica en más de 170 serogrupos según las características antigénicas de sus lipopolisacáridos (LPS) y en serotipos por la combinación de sus tres antígenos de superficie O (somáticos), H (flagelares) y K (capsulares). Estos antígenos han sido empleados para su clasificación o identificación (Acuña y col., 2002).

**Cuadro III: Características de la enfermedad relacionada con *E. coli***

Tipo de <i>E. coli</i>	Tiempos para el comienzo de la enfermedad	Duración de la enfermedad	Serie de síntomas
EPEC	17 a 72 horas. Promedio de 36 horas	6 horas a 3 días. Promedio 24 horas	Diarrea intensa en niños que puede durar más de 14 días. También fiebre, vómitos y dolor abdominal. En adultos, diarrea acuosa intensa con cantidades abundantes de moco (síntoma principal) sin sangre, y con náuseas, vómitos, calambres abdominales, dolor de cabeza, y escalofríos.
ETEC	8 a 44 horas. Promedio 26 horas	3 a 19 días	Diarrea acuosa, fiebre baja, calambres abdominales, malestar, náuseas.
EHEC	3 a 9 días. Promedio 4 días	2 a 9 días. Promedio 4 días	Colitis hemorrágica (HC): comienzo súbito de intensos calambres abdominales dolorosos, diarrea groseramente sanguinolenta, vomito, sin fiebre. -Síndrome urémico hemolítico (HUS): diarrea sanguinolenta, insuficiencia renal, aguda en niños, trombocitopenia, nefropatía aguda, convulsiones, coma, muerte. -Púrpura trombótica trombocitopénica (TTP): parecidos a los de HUS pero también fiebre, trastornos del sistema nervioso central, dolor abdominal, hemorragia gastrointestinal, coágulos de sangre en el cerebro, muerte.
EIEC	8 a 24 horas. Promedio 11 horas	Días a semanas	Diarrea profusa o disentería, escalofríos, fiebre, dolor de cabeza, dolor muscular, calambres abdominales

Fuente: Adaptada Doyle, 1989.

## ***Escherichia coli* O157:H7**

Su nombre se origina del antígeno somático [O] 157 identificado y el séptimo antígeno flagelar [H]. El antígeno [O] se deriva de la pared celular y el [H] del flagelo este se encuentra solo en especies móviles (Varela y col., 2008).

*Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) fue descrito por primera vez por Konowalchuk en 1977, quien informó que cepas de *E. coli* de los serogrupos O18, O26, O111 y O128 aisladas de niños con diarrea y de cerdos con edema de pulmón producían una toxina que se denominó Verotoxina (Stanchi, 2007).

En 1982, en Oregón EEUU se produjo un primer brote de colitis hemorrágica causado por el consumo de hamburguesas, identificándose por primera vez el serotipo de *E. coli* O157:H7 como patógeno humano caracterizado por fuertes dolores abdominales severos y diarrea, seguida por diarrea con sangre y ausencia o mínima manifestación febril por la sintomatología la enfermedad fue llamada colitis hemorrágica (Riley y col., 1983). Tres meses más tarde el segundo brote en Michigan, EEUU; identificándose a las hamburguesas mal cocidas de una misma cadena de comida rápida como el vehículo, aislándose *Escherichia coli* O157:H7 de pacientes y de carne picada congelada (Wells y col., 1983).

### **Cuadro IV: Consecuencias de algunos brotes ECEH**

Lugar	Brotos	Enfermos	Hospitalizados	SUH	Muertos
EEUU (1982-86)	139	3.000	660	180	18
Inglaterra (1992-96)	37	381	120	59	14
Japón (1996)	Varios	9.451	1.808	101	1

Fuente: Rey, 2005.

Durante la década de los 90, cepas de ECEH de otros serotipos, tales como O26, O103 y O111, se vincularon cada vez más con enfermedad humana, según se indica en los datos de vigilancia de la FAO (FAO, 2003).

Dentro del grupo STEC, *E. coli* O157:H7 es el serotipo aislado más frecuentemente y al que se le atribuye la ocurrencia de la mayoría de los grandes brotes como los registrados en Estados Unidos (Rivas y col., 2006).

### **Clasificación:**

La cepa de *Escherichia coli* O157:H7 está formada por bacilos Gram negativos, no esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles (NM), aerobios-anaerobios facultativos. Se trata de bacterias de rápido crecimiento y amplia distribución en el suelo, el agua, vegetales y gran variedad de animales (Acuña y col., 2002).

Las podemos clasificar según características epidemiológicas en prevalentes, esporádicas o por brotes y emergentes (Stanchi, 2007). *Escherichia coli* O157:H7 es causa de ETA emergente, definiéndose como aquella enfermedad de reciente aparición en los últimos 20 años (Cabrera y col., 2007).

Se presenta en casos esporádicos o brotes. Entendiéndose por brote aquel episodio en el cual dos o más personas presentan una enfermedad similar después de ingerir alimentos (Guía VETA, 2001).

Este microorganismo y su toxina son causantes de una toxiinfección alimentaria, definiéndose esta como aquellas producidas por la ingestión de alimentos que poseen microorganismos vivos que al llegar a un lugar propicio en el organismo huésped crecen y liberan toxinas que serán las encargadas de la acción patogénica en las células blanco (Stanchi, 2007).

Otra clasificación de ETAS hace referencia a la gravedad; las divide en baja, moderada y alta; estas últimas son aquellas que ocasionan problemas de salud graves e incluso muerte citándose como ejemplo a *Escherichia coli* O157:H7 (Stanchi, 2007).

*Escherichia coli* O157:H7 pertenece al grupo de las E. coli enterohemorrágicas (ECEH) ya descrito anteriormente. Se encuentra entre los microorganismos patógenos emergentes de gran relevancia en los últimos años. Otra subdivisión dentro del grupo las E. coli productoras de toxina Shiga las separa en cepas O157 y el resto, que fueron denominadas no-O157 ya que presentan gran variabilidad en sus características bioquímicas y genéticas.

Todos las cepas de ECEH producen factores citotóxicos para las células renales del mono verde africano ( células Vero) que han sido descritas como Verotoxinas (VTs) o también como toxinas parecidas a la Shiga (SLTs) porque la VT1 es parecida a la toxina Shiga producida por el tipo 1 de *Shigella dysenteriae* (Doyle, 1997). También llamada STEC, por sus siglas en ingles. STEC y VTEC son términos equivalentes (Karmali y col., 1989).

Las cepas STEC de origen humano, animal o de alimentos pueden producir básicamente dos tipos de toxina Shiga: Stx1, Stx2 y sus variantes de Stx1 o Stx2, solas o en combinación de dos o más toxinas (Stx1/Stx2, Stx1/Stx2v, Stx1c/Stx2, Stx1c/Stx2d, Stx2/Stx2v) (Friedrich y col., 2003). Stx2 tiene una actividad citotóxica de 100 a 1000 veces superior a Stx1 y no es neutralizado por el suero antitoxina Shiga mientras que Stx1 si se neutraliza (Acuña y col., 2002).

Algunos autores clasifican las toxinas Shiga en 6 tipos, 1, 2, 2c, 2d, 2e, 2f, los que agrupan a 22 variantes genéticas Stx. Esta clasificación se basa en la variabilidad antigénica, diferencias respecto de su toxicidad en tejidos celulares y animales, capacidad de ser activadas por elastasa de ratón y diferenciadas en las secuencias aminoacídicas o nucleótidas (Galli y col., 2008).

Recientemente se ha propuesto una nueva clasificación de las cepas STEC en 5 seropatotipos (A, B, C, D Y E) teniendo en cuenta la asociación de serotipos con grado de severidad de la enfermedad en el hombre y con la frecuencia de participación en brotes o casos esporádicos (Karmali y *col.*, 2003).

**Cuadro V: Clasificación de serotipos de STEC en seropatotipos.**

Seropatotipo	Incidencia relativa	Frecuencia en la ocurrencia de brotes	Asociación con enfermedades severas	Serotipos
A	Alta	Común	Si	O157:H7, O157:NM
B	Moderada	No común	Si	O26:H11, O103:H2 O111:NM, 121:H19 O145:NM
C	Baja	Rara	Si	O91:H21, 104:H21, O113:H21; y otros serotipos asociados a casos esporádicos de SUH
D	Baja	Rara	No	Serotipos con una incidencia relativa baja y asociados con casos leves de diarrea
E	Nula humanos	Nula	Nula	Cepas STEC de animales no implicados en enfermedad humana

Fuente: Karmali y *col.*, 2003.

### Propiedades:

#### Principales características bioquímicas

Este serogrupo de ECEH tiene características bioquímicas distintivas de *Escherichia coli* genérica; ya que no fermenta el sorbitol en 24 horas (Wells, 1983) como la mayoría de las *E. coli* y presenta incapacidad para producir  $\beta$ -glucuronidasa, esto es incapacidad para hidrolizar el 4-metil-umbeliferil-D-glucuronido (Doyle, 1991). Estas dos características son de gran relevancia a la hora de aislar el patógeno.

Se ha reportado que fermenta la lactosa (Ratnam y *col.*, 1988). La fermentación de sucrosa fue observada en el 87% de las cepas de *E. coli* O157:H7, en contraste a las de *E. coli* que solo fermentaron un 42-54%. La mayoría de las cepas (87%) fermentan dulcitol y sucrosa en un periodo de 24 horas, mientras que el 89% no fermentaron ramnosa en este periodo de tiempo (Ratnam y *col.*, 1988).

## Temperatura:

Esta bacteria ECEH no soporta temperaturas superiores a 41°C y su mínima temperatura de crecimiento es entre 8 a 10 °C (Buchanan, 1997). El calor la destruye; por ejemplo la cocción de una hamburguesa a 70°C durante 2 minutos, resulta suficiente (Rey, 2005).

Si bien *E. coli* no crecerá en las condiciones normales de las temperaturas de refrigeración usadas habitualmente en la industria alimentaria, esto es 3-7°C, *E. coli* patógeno puede sobrevivir bien durante varias semanas con solamente la reducción de 0,5-1,5 ciclos logarítmicos en las poblaciones observadas durante 1 a 5 semanas (ICSMF, 1998).

El siguiente cuadro muestra la temperatura óptima y los límites de temperatura para el crecimiento de *E. coli* que demuestra el intervalo de temperatura ligeramente más restringido tolerado por *E. coli* O157:H7. En condiciones de congelación, los recuentos de *E. coli* apatogenos resultan reducidos en diez veces a -25,5°C durante 38 semanas pero en el caso de *E. coli* O157:H7 en la carne se observó una modificación insignificante o nula en el número de organismos de la población durante 9 meses a -20°C (Bell, 1998).

**Cuadro VI: Temperatura óptima y límites de temperatura para el crecimiento de *E. coli* y *E. coli* O157: H7**

	Mínimo (°C)	Óptimo (°C)	Máximo (°C)
<i>E. coli</i> (todos los tipos)	7 – 8	35 – 40	44 – 46
VTEC O157:H7	8	37	44 – 45

Fuente: López, 2011.

No es capaz de multiplicarse a temperatura de refrigeración, aunque crece a temperaturas tan bajas como 7°C u 8°C, pero es capaz de sobrevivir en alimentos refrigerados (Buncic, 2006).

El tratamiento térmico es el método recomendado para asegurar la eliminación de *Escherichia coli* O157:H7 de los alimentos. La temperatura de pasteurización de la leche (72°C, durante 16,2 s) es un método efectivo para eliminar 104 células de *E. coli* O157:H7 por mililitro. En los alimentos cárnicos una temperatura interna de 63°C, constituye un punto crítico de control para asegurar la destrucción de *E. coli* O157:H7. Sin embargo, la Food and Drug Administration de EE.UU. recomendó incrementar la temperatura de cocción de las hamburguesas a 68,3°C después de un brote que involucró a cinco Estados y afectó a más de 700 personas (Griffin y col., 1991).

## pH:

El pH de crecimiento óptimo para *E. coli* O157 es un intervalo de 4,4 a 9,0 (Buncic, 2006). A diferencia de la gran mayoría de los microorganismos patógenos transmitidos por alimentos *Escherichia coli* O157:H7 es singularmente resistente a medios ácidos. Estudios han revelado que puede sobrevivir a la fermentación, desecación, y almacenamiento de embutidos fermentados (pH: 4,5) durante 2 meses a 4°C con solo una reducción de 100 veces en las poblaciones de células (Zhao y col., 1998).

Poseen la capacidad de sobrevivir siendo transitoriamente expuestos a pH extremos de 1,5 a 3,0 y por más tiempo a rangos más moderados de 3,0 a 4,5 (Buchanan y col., 1996). *Escherichia coli* O157:H7 tolera condiciones de acidez más bajas que otros tipos de *E. coli* al punto de sobrevivir en mayonesa; a diferencia que otras de su misma familia. Esto le permite atravesar la acidez del estómago sin verse afectada (Michaine, 2003).

Un estudio llevado a cabo con mayonesa comercial confirma la sobrevivencia de *E. coli* O157:H7 en medios ácidos. Se exhibió sobrevivencia de la bacteria en dicho producto a una temperatura de 5° a 7° C durante 35 días, dichas células no fueron detectadas después de 72 horas al ser almacenadas a 25°C. La mayonesa tenía un pH de 3.65 (Doyle, 2001).

## NaCl:

Estudios han comprobado la tolerancia de *Escherichia coli* O157:H7. El microorganismo fue expuesto a concentraciones de 4.5% y 6.5% de NaCl donde se observó una disminución en su ritmo de crecimiento. Estas investigaciones encontraron que a partir de una concentración de NaCl mayor de 8.5 % se detuvo el crecimiento (Doyle, 2001).

En concentraciones de 6,5% de NaCl, ECEH tiene una resistencia a las condiciones ácidas similar a *Escherichia Coli* genérica, que en general son bastante resistentes (Buncic, 2006).

### **Cuadro VII: Parámetros limitantes del crecimiento correspondientes a *E. coli* patógeno.**

	Mínimo	Máximo
Ph	4,4*	9,0
a <sub>w</sub>	0,95	-
Cloruro sódico	Crece con vigor en NaCl al 2,5 % Crece lentamente en NaCl al 6,5 % No crece en NaCl al 8,5 %	

\* *E.coli* O157:H7 es ácido resistente, sobreviviendo en valores de pH menores que 4,4.

Fuente: ICMSF, 1996.

**$a_w$ :**

La actividad de agua de un producto alimenticio se reduce mediante la adición de cloruro sódico, azúcares y/o otros solutos. Cuanto más elevada es la concentración del soluto, tanto más baja es la actividad del agua del producto. La reducción de  $a_w$  en *E. coli* produce la inhibición o reducción del crecimiento; pero en el caso de la cepa O157:H7, se han reportado brotes producidos por productos cárnicos fermentados secos de  $a_w$  relativamente baja (0,9) por tanto se concluye que este microorganismo es capaz de sobrevivir a los procesos de fermentación y desecación (Bell, 1998).

**Cuadro VIII: Características de los productos cárnicos fermentados secos al final de los procesos de fermentación y desecación en los que sobrevivió *E. coli* O157:H7.**

Características	Glass et al., 1992a	Hinkens et al., 1996b
pH	4,5	4,74 +/-0,09
Humedad (%)	37	27,47 +/-1,97
Grasa (%)	31	46,6 +/-1,44
Concentración de NaCl (%)	4,9	4,4 +/-0,29
Proteína (%)	21	20,33 +/-0,73
Relación humedad/proteína	1,8:1	1,35 +/-0,14
Actividad de agua	-	0,87 +/-0,02

a- Los valores son un promedio de tres determinaciones en cada uno de los dos análisis al final de la desecación durante 18 a 21 días.

b- Después de 21 días de desecación.

Fuente: Bell, 1998.

Los resultados de estos estudios demuestran que la asociación de condiciones físicas subóptimas tales como, pH, temperatura y  $a_w$  tiene un efecto mayor que cualquiera de ellos utilizados individualmente (Bell, 1998).

**Resistencia antibiótica de *E. coli* O157:**

El uso de antibióticos puede alterar la flora microbiana de bovinos y permitir que el patógeno se multiplique en el tracto digestivo. Además de permitir que *E. coli* O157:H7 adquiera resistencia a antibióticos tales como la estreptomycin, sulfisoxazole y tetracyclina, permite que tenga una ventaja competitiva sobre la flora microbiana normal (Oquendo, 2006).

Los primeros estudios realizados a *E. coli* O157 revelaron que eran sensibles a casi todos los antibióticos. Sin embargo estudios recientes muestran un gran aumento de la resistencia a los antibióticos (Doyle, 2001).

En un estudio realizado en nuestro país por Gil y *col.*, (2006) se observó la susceptibilidad a los agentes anti-microbianos para *E. coli* O157 y Salmonella. En el mismo se analizaron cepas aisladas que fueron probadas para su resistencia a 12 anti-microbianos según la prueba de susceptibilidad a la difusión de los discos. Los anti-microbianos probados fueron: ampicilina (AM), amoxicilina (AMC), cefalotina (CF), ceftiofur (XNL), estreptomycin (S), gentamicina (GM), sulfasozasole (G), trimethoprim/sulfametoxasole (SXT), eritromicina (E), ácido nalidixico (NA), tetraciclina (TE) y cloranfenicol (C) (Gil, 2006). El resultado del estudio determinó una susceptibilidad a los agentes antimicrobianos superior al 90%. Lo cual evidencia el buen manejo que se hace de los mismos en nuestro país.

### **Otras propiedades:**

La dosis infectiva es sumamente baja, entre 10 y 100 UFC bastan para causar enfermedad (Buncic, 2006). En un estudio realizado por Payton-Pruett y *col.* (2002) sobre muestras tomadas de lotes de carne molida que fueron implicados en el brote de Síndrome Urémico Hemolítico en humanos en el año 1993 se observó que con unas pocas células alcanzaba para causar la infección, fueron reportados niveles de 0.9 a 4.3 UFC/g (Oquendo, 2006).

En cuanto a la resistencia en el medio ambiente, se mantiene viable en los efluentes ganaderos y en los suelos durante meses, hasta un año (Buncic, 2006).

### **Epidemiología:**

Esta bacteria es considerada actualmente como un patógeno zoonótico emergente y agente de enfermedades transmitidas por alimentos en todo el mundo. Dado a la cantidad de casos esporádicos y brotes epidémicos de infecciones que causa a nivel mundial (Gadea y *col.*, 2009).

La mayoría de los conocimientos acerca de la transmisión de *Escherichia coli* O157:H7 proviene de la investigación de brotes (Armstrong, 1996). Es poco lo que se conoce de las infecciones esporádicas; a pesar de que probablemente sean más comunes que los brotes (Griffin y *col.*, 1991).

### **Portadores:**

El ganado bovino es el mayor reservorio de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga con más de 435 serotipos aislados y junto a otros rumiantes domésticos constituyen el reservorio más importante para estos agentes (Schelotto y *col.*, 1996). Siendo su tracto intestinal y posteriormente el cuero sus mayores puntos de contaminación (Rovira, 2009); investigaciones realizadas en Wisconsin en el año 1996, comprobaron que la mayor incidencia de *E. coli* O157:H7 se encuentra en el ganado vacuno joven (Shere y *col.*, 1998).

El crecimiento de *E. coli* O157 en líquido ruminal de los animales bien alimentados se encuentra limitado por el pH y la concentración de ácidos grasos volátiles cosa que no sucede en los que se someten a ayunos de 24 a 48hs aumentando la difusión (como sucede previo a faena). Si bien la infección animal individual con *E. coli* O157 es transitoria, la del rebaño se mantiene (Wells y col., 1991). El tiempo promedio en el cual este patógeno se mantiene en el sistema gastrointestinal de los rumiantes es de 30 días, aunque en algunos animales la bacteria puede estar presente hasta un año o más (Oquendo, 2006).

Generalmente está asociada a la carne de los animales procedentes de feed lot ya que la probabilidad de transferencia de un animal a otro es más alta en los feed lot porque aumenta la concentración de animales y eso aumenta la contaminación (Bosilevac, 2010). En nuestro país la cantidad de animales faenados provenientes de sistemas intensivos de engorde a corral no supera el 8% del total de la faena, el sistema de producción predominante es a campo, a cielo abierto donde la base de la dieta lo constituye el forraje proveniente de los pastizales naturales (INIA, 2010).

Otro estudio más reciente determinó que el ganado alimentado con pasto exhibe el patógeno en sus heces por mayor tiempo que animales que son alimentados con granos y que el patógeno era igual en cuanto a su resistencia a ácido. Por otra parte el agrupar el ganado vacuno, utilizar utensilios sin desinfectar y la alimentación temprana de granos han sido factores asociados a un aumento en la incidencia de la bacteria (Jay, 2002).

La eliminación fecal en bovinos es intermitente y de corta duración (pocas semanas o meses). Las mismas cepas han sido aisladas en diferentes regiones y diferentes momentos. Pudiéndose aislar más de una cepa de *E. coli* O157 de las heces de un mismo animal o de diferentes de un mismo lote (Fernández, 2006).

En países como Australia donde el ganado ovino es muy numeroso e importante en la industria agropecuaria se le considera como uno de los principales reservorios de esta bacteria (Gadea y col., 2009).

Si bien toda la bibliografía reconoce y coincide en señalar como principal portador de ECEH al bovino, cabe destacar que también se encuentra en ovejas, ciervos, cabras, aves de abasto, perros, gatos, ratas, moscas, pájaros, y humanos (Gil y col., 2004); siendo portadores asintomáticos. Los seres humanos también pueden desempeñar esa función de persona a persona (Chin, 2001).

*E. coli* productor de verotoxina (VTEC o STEC) se encuentra con frecuencia en las heces de terneras, vacas, búfalos, ovejas y cabras (ICMSF6, 1998). Se ha aislado en ganado vacuno sano, de ganado vacuno asociado con enfermedades humanas, de ganado vacuno lechero y de carne y de vacas alimentados en pastizales y en establos (ICMSF6, 1998).

Se puede encontrar *E. Coli* O157:H7 en cualquier ambiente; cualquier lugar donde los animales (incluyendo mascotas) convivan con los humanos. *E coli* sobrevive extremadamente bien (VanOverbeke, 2010). En Argentina en un estudio realizado en muestras de materia fecal de perros y gatos se aislaron cepas STEC del 4% de las muestras (Gadea y col., 2009).

### Vías de transmisión:

La infección se adquiere habitualmente por ingestión de alimentos contaminados, con mayor frecuencia carne bovina mal cocida en especial picada (Chin, 2001). La carne picada es la fuente de contaminación implicada más frecuentemente en los brotes por STEC O157:H7 y los productos derivados de bovinos se asocian en un 75% aproximadamente de los brotes ocasionados por este patógeno (Gadea y col., 2009).

La contaminación de los alimentos se debe principalmente al contacto con las heces de los animales. El consumo de carne picada o hamburguesas mal cocidas es la principal causa de infección por STEC ya que durante la faena se contamina la superficie de la res, y en el procesamiento se transfiere la contaminación bacteriana al interior de la carne, donde los microorganismos pueden resistir una cocción insuficiente (OPS, 2011).

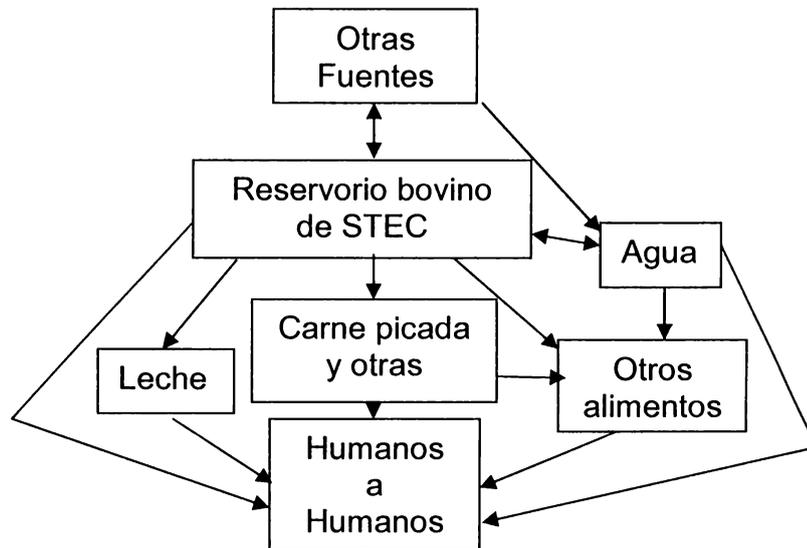
Además de presentar a los productos cárnicos con contaminación fecal como principal fuente de transmisión de esta enfermedad, no se debe desconocer que hay muchas otras causas de transmisión como ser: jugos, mayonesa, yogurt, sidra de manzana, ensaladas, vegetales, agua recreacional, y de bebida y la transmisión de persona a persona (Gil y col., 2004). El agua de bebida constituye en las granjas una fuente de diseminación y mantenimiento de *E. Coli* O157 (Faith y col., 1996).

### Cuadro IX: Principales alimentos vehiculizadores de *E. coli* O157 (EE.UU)

Posición	Alimento(s) vehiculizador(es) u origen	N° de brotes (%)
1	Carne picada de vaca	22 (32,4)
2	Persona a persona	9 (13,2)
3	Hortalizas, bares de ensaladas	4 (5,9)
4	Agua, agua de baño	3 (4,4)
5	Rosbif	2 (2,9)
5	Leche fresca	2 (2,9)
5	Sidra de manzana	2 (2,9)
-	Desconocido	19 (27,9)

Fuente: Doyle, 2001.

Existe una susceptibilidad muy marcada en niños, ancianos e inmunocomprometidos. Por lo que se observan principalmente en jardines maternos e infantiles, casas de ancianos e instituciones para enfermos mentales (Gadea y col., 2009). Si bien la infección por STEC puede afectar a niños de ambos sexos, se demostró que las niñas son más propensas a enfermarse que los niños (OPS, 2011).



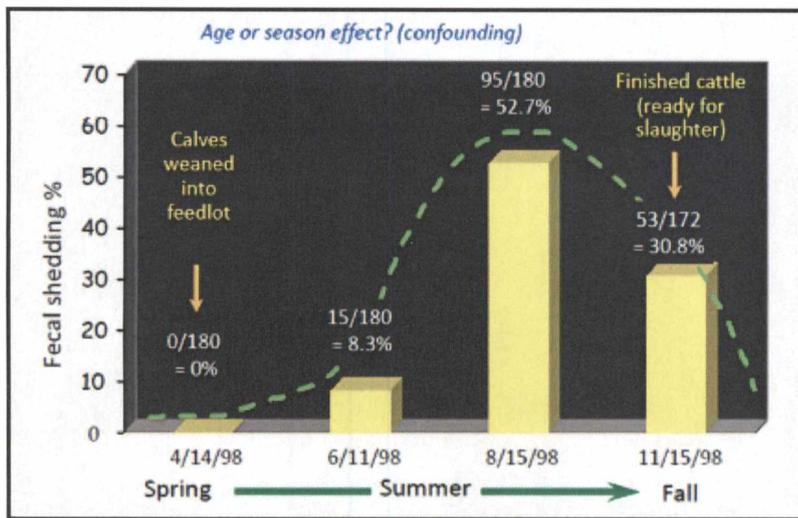
**Figura I: Vías de transmisión**

Fuente: Gadea y col., 2009 (Adaptado de Armstrong, 1996)

### **Estacionalidad:**

La prevalencia del patógeno puede ser menor o mayor dependiendo de la época del año. Se ha comprobado que la época de mayor incidencia de enfermedades en humanos asociadas a este patógeno ocurre durante los meses de verano, la misma época que la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en las heces del ganado bovino es mayor (LeJeune, 2001).

Estudios realizados en EEUU han demostrado un aumento en la prevalencia que se produce a finales de verano y principios de otoño. Aproximadamente el 86% de los brotes de *E. coli* O157:H7 reportados en Estados Unidos ocurren entre los meses de mayo a octubre (Thippareddi, 2011). La razón de este patrón se desconoce, pero se cree que puede deberse a un aumento en la prevalencia del patógeno en el ganado vacuno u otros rumiantes o de vehículos de transmisión durante el verano (Doyle, 2001).



**Figura II: Efectos de la estación del año**

Fuente: Thippareddi, 2011.

Además debe considerarse un factor muy importante que es la manipulación por parte de los consumidores. Durante el verano hay un aumento en el consumo de carne molida o en corte debido al aumento de comidas al aire libre, además se observa un aumento en el manejo inapropiado de los alimentos, esto incluye: abuso de temperatura, contaminación cruzada y la cocción incompleta de productos cárnicos la cual aumenta durante los meses de calor (Doyle, 2001).

En nuestro país también se ha documentado el aumento de casos de niños con diarrea a causa de ECEH en los meses cálidos (Gadea y col., 2009) entre noviembre y marzo; raramente en los meses de invierno (Acuña y col., 2002).

### **Distribución mundial:**

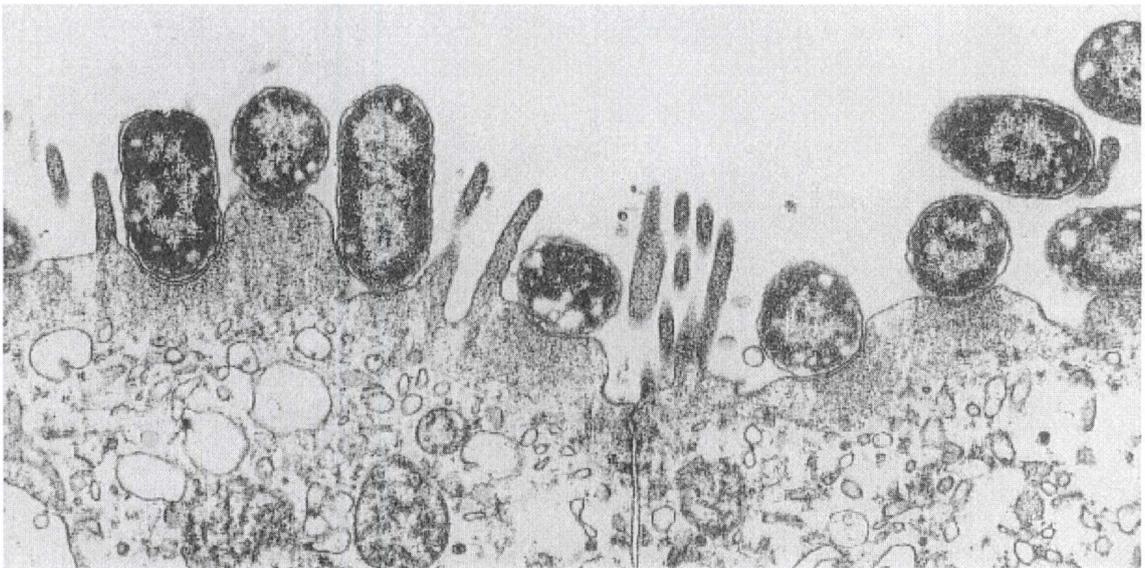
Se encuentra distribuida en todos los continentes, su distribución mundial no guarda relación al nivel de desarrollo cultural ni económico de los países; de hecho EEUU uno de los países de mayor desarrollo se encuentra entre los más afectados por esta bacteria, siendo Argentina la más afectada de Sudamérica (Leotta, 2005).

Se reconoce que estas infecciones constituyen un problema importante en América del Norte, Canadá, Europa, Sudáfrica, Japón, el cono sur de América del Sur y Australia (Chin, 2001).



La producción de toxina Shiga (Stx) representa el atributo de virulencia más importante en *Escherichia coli* productora de toxina Shiga y es el factor que define este patotipo pero no el único; la capacidad de producir Stx no es suficiente para que ECEH sea patógena, se requiere de otros marcadores de virulencia (Fernández, 2006).

El serotipo O157:H7 como la mayoría de las cepas altamente patogénicas, coloniza el intestino grueso por medio de una lesión característica de Adherencia y Borramiento (A/E por sus siglas en inglés de attaching and effacing). Esta lesión es inducida por un sistema de secreción tipo III (también presente en ECEP y otros patógenos intestinales) que inyecta proteínas en la célula epitelial, provocando profundos cambios estructurales y funcionales de la célula huésped y en la unión/adherencia íntima de la bacteria al enterocito (Gadea y col., 2009).



**Figura IV: Mecanismo de patogenicia de *Escherichia coli*, productor de toxina Shiga – Lesión A/E**

Fuente: Adaptado de Knutton y col., 1987).

Si bien su principal factor de virulencia es la toxina Shiga tipo 1 o 2; la mayoría de las cepas ECEH poseen un plásmido de gran tamaño (60 MDa) que tiene el gen *ehxA* que codifica una enterohemolisina (EHEC-HlyA) y portan, además, una isla de patogenicidad denominada LEE (locus of enterocyte effacement) ubicada en el cromosoma bacteriano que contiene, entre otros, el gen *eae* que codifica la intimina, los genes *esp* (*E. coli* secreted proteins), el gen *tir* que codifica para el receptor translocado de intimina y los genes para la síntesis del sistema de secreción tipo III (Balseiro, 2006).

En cepas STEC y de *E. coli* enteropatógeno clásico (EPEC) de diferentes serotipos se han descrito más de 20 variantes del gen *eae*. Las cepas que expresan intimina tipo a se adhieren, sobre todo, a nivel del intestino delgado; las cepas con intimina tipo g1 y g2, en cambio, se unen fundamentalmente en el colon (Varela y col., 2008).

En los últimos años se han descrito nuevos serotipos STEC asociados a casos de diarrea con sangre y SUH. También se ha comunicado el aislamiento de cepas STEC *eae*-negativas a partir de individuos con SUH (Paton y col., 1999).

Características que determinan su virulencia:

a) Producción de toxinas Shiga (Stx): Stx1 y Stx2. Estas toxinas son proteínas compuestas por dos polipéptidos, un pentámero de adhesión formado por cinco subunidades B y una subunidad A (fracción enzimáticamente activa). Una vez fijada a su receptor a través de la subunidad B, las Stx son internalizadas dentro de las células blanco (endoteliales, epiteliales y hematíes que presentan en su membrana el grupo glicolipídico Gb3) por un mecanismo de endocitosis. La subunidad A es clivada liberando un fragmento A1 cuya actividad catalítica resulta en un bloqueo irreversible de la síntesis proteica. La secuencia de la toxina Stx1 está altamente conservada, mientras que existe variación en las secuencias de Stx2, resultando en numerosas variantes (Rivero y col., 2004)

b) Plásmido pO157: grandes plásmidos enterohemorrágicos (megaplásmido 60 (MDa) o Mp) que se encuentran presentes en casi la totalidad de las cepas productoras de toxina Shiga (Rivero, 2004). Contiene diversos genes que codifican para los siguientes factores de virulencia: *espP* (serina proteasa extracelular), *katP* (catalasa-peroxidasa), *hlyA* (enterohemolisina), *etp* (sistema de secreción tipo II) y codifican para una fimbria de adherencia a los enterocitos, una hemolisina EHEC (HlyEHEC) y una adhesina (OPS, 2011).

c) Factores de adherencia intestinal codificados en la región LEE (del inglés, locus of enterocyte effacement) del cromosoma: En la misma se encuentra el gen *eae*, el cual codifica una proteína de membrana externa denominada intimina (Oswald y col., 2000) responsable de la unión íntima de la bacteria al enterocito y de la desorganización de las microvellosidades con producción de la lesión A/E adherencia y borramiento (del inglés, attaching and effacing). La formación de lesión A/E está asociada con un drástico reordenamiento del citoesqueleto de la célula huésped, dando como resultado la producción de una estructura con forma de pedestal. La región LEE codifica además reguladores transcripcionales, chaperonas, el sistema de secreción de tipo III (TTSS) empleado en el transporte de las proteínas efectoras hacia la célula huésped, translocadores, y proteínas efectoras incluyendo al receptor translocado de la intimina denominado Tir (del inglés, translocated intimin receptor) (OPS, 2011)

Se considera que ciertos serotipos de STEC-LEE positivos (O157:H7, O26:H11, O111:NM y O145:NM) son altamente virulentos y están asociados a brotes y casos esporádicos de enfermedad severa en humanos (Paton y *col.*, 1998). Sin embargo, la presencia de la región LEE no sería esencial para la patogénesis, dado que un gran número de cepas STEC-LEE negativas son capaces de causar enfermedad severa y ocasionalmente brotes (Paton y *col.*, 1999). Por lo tanto, en estas cepas otros factores de adherencia adicionales estarían involucrados en la patogénesis.

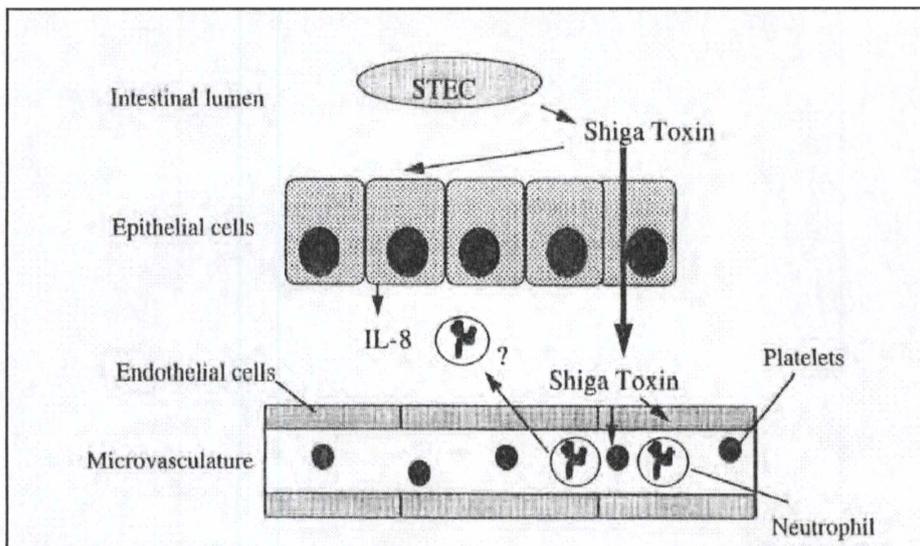
Uno solo de estos factores no puede considerarse responsable de la virulencia de STEC; un análisis multivariado de estos factores manifestó que la intimina y la toxina Stx eran los que estaban más fuertemente asociados a la severidad de la enfermedad humana y que esto no sucedía con la enterohemolisina (Boerlin y *col.*, 1999).

Stx, intimina y enterohemolisina son considerados factores de virulencia primarios, aunque otros menos estudiados pueden ser importantes, incluyendo otras hemolisinas, otros factores de adherencia intestinal y el lipopolisacárido O157 (LPS) (Nataro y *col.*, 1998).

En cepas negativas para LEE se ha encontrado el gen *saa* en el Mp, pudiendo ser éste uno de los mecanismos que intervienen en la adherencia de estas cepas carentes de intimina (Rivero y *col.*, 2004). Con inducción de interleuquina-8 (IL-8), que contribuye a la acumulación de leucocitos en la pared intestinal. Se produce un daño en las células endoteliales de los vasos sanguíneos provocando diarrea sanguinolenta (OPS, 2011).

Stx entra a la circulación sanguínea y es transportada a distintos órganos blanco cuyas células endoteliales poseen el receptor Gb3. El LPS bacteriano y las citoquinas del huésped aumentan la sensibilidad a las Stx incrementando la disponibilidad de dichos receptores. En el riñón se encuentran altos niveles de Gb3, particularmente en la región cortical, donde se observan las principales lesiones en los pacientes con SUH (OPS, 2011),

Las lesiones histopatológicas ocurren por interacción de la Stx con las células endoteliales de los vasos sanguíneos, éstas se hinchan y se desprenden a nivel del glomérulo. Simultáneamente se produce un depósito de fibrina y de plaquetas en la microvasculatura renal, se oclucionan los capilares y se reduce el flujo sanguíneo, provocando insuficiencia renal y ruptura de los glóbulos rojos. También se observan lesiones trombóticas, particularmente en la microvasculatura del intestino, cerebro y páncreas (OPS, 2011).



**Figura V: Mecanismo de patogenia de *Escherichia coli* O157:H7 productor de toxina Shiga**

Fuente: OPS, 2011 (Adaptado de Acheson y col., 1998).

### Cuadro clínico

El cuadro clínico de la toxiinfección alimentaria con ECEH incluye un período de 1 a 2 días de vómitos, fiebre baja o ausente, dolores abdominales severos, diarrea sin sangre y evidencia de edema de la mucosa colónica como síntomas iniciales, seguidos por diarrea sanguinolenta o colitis hemorrágica (CH) durante 4 a 6 días (OPS, 2011). Puede progresar a Síndrome Urémico Hemolítico con fallo renal leucopenia y anemia (Nataro y col., 1998).

El período de incubación es de 3 a 8 días y la enfermedad puede extenderse por semanas, oscilando entre 1 y 11 días (Oquendo, 2006). La sintomatología dura aproximadamente 8 días (Rupnow, 2011).

La infección por STEC puede causar casos esporádicos o brotes de diarrea, colitis hemorrágica, Síndrome Urémico Hemolítico (SUH), púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) y ocasionalmente lesiones en el sistema nervioso central (Rey, 2005). Además, puede mimetizar desórdenes no infecciosos como intususcepción, apendicitis, diverticulosis, colitis isquémica y ulcerativa. La PTT tiene unos síntomas similares a SUH, pero afectando también al SNC, pudiendo producirse hemorragias internas y coágulos en el cerebro (Tarr y col., 1995).

Si bien los síntomas nerviosos no son habituales pueden presentarse, se estima que entre un 30 a 50% de los afectados. Las manifestaciones neurológicas más comunes incluyen irritabilidad, letargia, convulsiones, depresión neuropsíquica, aunque también pueden ocurrir complicaciones más serias como estado de coma y derrame cerebral (Balseiro, 2006).

El SUH está definido por la triada clásica: anemia hemolítica microangiopática, trombocitopénica y falla renal aguda, precedidas habitualmente por diarrea con sangre (Varela y col., 2008). La asociación entre SUH e infección por STEC se demostró primero en Canadá en 1983-1985 y posteriormente se confirmó en distintos países (Rivero y col., 2004).

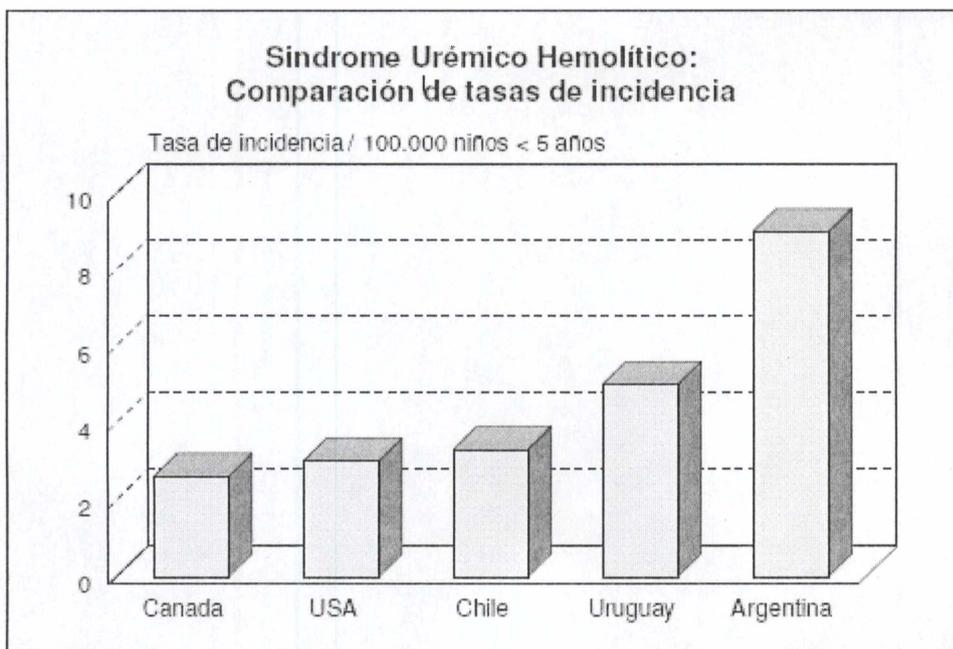
El SUH, descrito por primera vez por Gasser en 1955, es una enfermedad de comienzo agudo con anemia hemolítica microangiopática, plaquetopenia y daño renal, que habitualmente puede seguir o no a un episodio de diarrea con o sin sangre, en un niño previamente sano. Las manifestaciones comunes son: palidez, petequias, hematomas, oliguria, edema, hipertensión arterial, y cambios neurológicos como letárgica o convulsiones (OPS, 2001).

Aunque en la mayoría de los casos la diarrea por STEC es autolimitada, aproximadamente del 5 al 10 % de los niños infectados evolucionan a SUH, para el cual no existe un tratamiento específico, sino de sostén (Varela y col., 2009).

Entre los factores predisponentes de evolución a SUH se incluyen: edades extremas (Tarr y col., 1987), leucocitosis, tratamiento con agentes reductores de motilidad o antidiarreicos, fiebre y en algunos casos diarrea sanguinolenta (Bell, 1997). La presencia del genotipo de la toxina de la cepa virulenta también influye en la evolución a SUH (Varela y col., 2005).

Estudios poblacionales sugieren que aproximadamente el 90% de los casos de SUH están precedidos por diarrea. Los niños constituyen el grupo más vulnerable, con una mayor incidencia de infecciones sintomáticas por STEC y riesgo alto de evolución a SUH (Mead y col., 1999) que normalmente dura varios días o semanas y precisa hospitalización, incluyendo transfusiones de sangre y diálisis (Buncic, 2006). Aproximadamente la mitad de los pacientes con SUH requiere diálisis y el 75% requiere transfusión sanguínea (Schelotto y col., 2002).

En nuestro país la edad promedio de los niños que han padecido esta enfermedad ronda los 11 meses, de nivel socio-económico aceptable y condición nutricional normal, que viven habitualmente en poblaciones chicas del interior o zonas suburbanas de Montevideo, pero no en zonas rurales. Estos desarrollan diarrea aguda, frecuentemente con sangre, seguida de signos y síntomas de SUH o sea afecciones hematológicas, renales y del sistema nervioso central. Se requiere diálisis en más de la mitad de los casos y 4 de cada 5 se recuperan. Pueden persistir hipertensión arterial, alteraciones neurológicas o secuelas en el parénquima renal que exigen diálisis o trasplante (Acuña y col., 2002).



**Figura VI: Comparación de tasas de incidencia**

Fuente: OPS, 2011.

Los criterios de laboratorio para el diagnóstico de SUH son:

- 1) Anemia de comienzo agudo, con hemoglobina menor de 10 mg/dl o hematocrito menor de 30% o caída de al menos 5 puntos, con cambios microangiopáticos en el frotis de sangre periférica (esquistocitos, células en casco o fragmentados) (Fernández, 2006).
- 2) Injuria renal aguda evidenciada por hematuria, proteinuria, uremia mayor de 50 mg/dl en ausencia de deshidratación o creatinina mayor de dos desviaciones estándar respecto a edad y sexo o aumento del 50% de los valores al inicio de la enfermedad (Fernández, 2006).
- 3) Recuento de plaquetas menor a 150.000/mm<sup>3</sup>. Las formas más severas de SUH incluyen un elevado recuento de leucocitos, período prodrómico con diarrea severa, anuria, convulsiones, principalmente afección en niños menores de 2 años y de sexo femenino (Fernández, 2006).

Otras consecuencias más graves como estado de coma o fatales pueden afectar a poblaciones susceptibles como niños que son más susceptibles al SUH y el púrpura trombótica trombocitopénica (PTT) aparece principalmente en ancianos (Nataro y col., 1998).

## Diagnóstico/Aislamiento

Considerando que dicho patógeno por lo general se encuentra en bajas concentraciones en cualquiera de las matrices evaluadas heces, cuero, suelo, carcasa y carne, hace más desafiante la tarea de su detección y aislamiento (Rovira, 2009).

Las cepas de *Escherichia coli* O157:H7 tienen características que las diferencian de las demás y facilitan su cultivo y detección (Blanco y col., 2001). Por su incapacidad de fermentar el sorbitol, no crecen a 44°C, carece de reacción a  $\beta$ -glucuronidasa, crece en presencia de telurito y cefiximina y presenta el gen *eae* que es un fragmento de pEHEC (pO157) usado como sonda, y la enterohemolisina. *Escherichia coli* O157:H7 presenta dichas características que no poseen las STEC no-O157 (Thran y col., 2001).

Para la detección de las cepas no-O157 se requiere de otras técnicas más específicas y costosas como ser la de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ya que desafortunadamente ninguna de las cepas no-O157 cuenta con marcadores bioquímicos conocidos para facilitar las pruebas de tamizaje en laboratorios (Mead y col., 1998).

Actualmente se está utilizando la técnica de separación inmunomagnética con previo enriquecimiento en caldo cultivo sorbitol Mac Conkey para detección de *Escherichia coli* O157 (Fernández, 2006). Como se menciona anteriormente las cepas de *E. coli* O157, no fermentan el sorbitol, es  $\beta$ -glucuronidasa negativo y además crece en presencia de telurito y cefixima. Basándose en estas propiedades se ha desarrollado el medio de enriquecimiento Mac Conkey-Sorbitol con telurito y cefixima (CT-SMAC) (Blanco y col., 2009).

La metodología de aislamiento utilizada en nuestro país por el Departamento de Bacteriología y Virología del Instituto de Higiene de la Facultad de Medicina de la Universidad de la República en sus investigaciones fue la siguiente:

- Muestras de heces humanas: Enriquecimiento en caldo digerido trípico de soja (TSB) suplementado con cefiximina y telurito (CT) de potasio (complemento que permite aumentar la selectividad para *E. coli* O157) (Gadea, 2009), seguido del aislamiento en placas de MacConkey sorbitol (SMAC) luego de 6 horas de incubación a 37°C. Luego la determinación específica de la cepa se realiza ADN y luego PCR para determinar los genes *stx1* y/o *stx2* (Varela y col., 2008).

- Muestras de alimentos: Cultivo en caldo EC modificado (ECm) suplementado con novobiocina. Se homogenizan en un homogeneizador tipo Stomacher y se incuban a 37 °C durante 6-8 horas con agitación a 140rpm. De esa muestra se toma para la realización de la Separación Inmunomagnética (SIM) con perlas recubiertas con anticuerpos para el serogrupo O157. De lo obtenido en SIM se siembra en placas agar SMAC y CT-SMAC. Las colonias sospechosas (S-) se estudian por reacción de aglutinación rápida en lámina con suero anti-O157. Otra alícuota del ECm se sembró directamente en placas de agar McS y agar CT-McS para detectar cepas no-O157 (Varela y col., 2008).
- Muestras de animales: se recogen 2 hisopados rectales por animal; que se cultivan uno en caldo CT-TSB y otro en Cary Blair (CB) es un medio de transporte utilizado para mantener la viabilidad de microorganismos lábiles. La muestra que está en CB se siembra en McS y se incuban a 37°C por 18-24 horas en busca de colonias sorbitol positivas y negativas Para diferenciar *E. coli* no-O157 y O157:H7. El hisopo que está en CT-TSB es sometido previamente a incubación de 6 horas a 37°C se siembran en McS y se incuban a 37°C por 24 horas en busca de colonia sospechosas de *E. coli* O157:H7 (Varela y col., 2008).

La detección de cultivos STEC de las muestras de origen alimentario, humano y animal se realizó por método de tamizaje, por PCR con cebadores específicos para *stx1* y *stx2* (Gadea y col., 2009).

El serotipo de las cepas STEC se determina por reacciones de aglutinación utilizando antisueros contra los antígenos "O" y "H", disponibles en el mercado y sueros policlonales preparados en el Departamento de Bacteriología y Virología del Instituto de Higiene de la Facultad de Medicina de la Universidad de la República (Varela y col., 2008).

El biotipo de las cepas STEC O157:H7 se determinó en base a las siguientes pruebas bioquímicas: Producción de ácido a partir de dulcitol, rafinosa, sorbitol, ramnosa, prueba de glucuronidasa y de lisina decarboxilasa siguiendo los procedimientos estándares (Gadea y col., 2009).

A nivel de frigoríficos en nuestro país la metodología de detección forma parte del "Programa de Control de *Escherichia coli* O157:H7 en carne bovina"; vigente desde el 1° de enero de 2008. Aplicado a carne bovina cruda en cortes trimming y/o carne sin hueso que puedan destinarse a preparar carne picada, producida en establecimientos habilitados para exportar a los Estados Unidos (90% de los frigoríficos del Uruguay).

En dicho programa se establecen muestreos de rutina oficiales y privados. En los cuales el plan de muestreo representativo es parte importante de la metodología de diagnóstico y debe seguir las indicaciones de la directiva del Food Safety and Inspection Service (FSIS) United States Department of Agriculture (USDA) (n=60, dividido en 5 instancias).

La muestra debe ser aproximadamente de 10cm x 5cm x 3mm, tomada de la superficie de la pieza de carne. Por lo que se trata de 5 bolsas plásticas estériles rotuladas con 12 trozos de carne cada submuestra debe pesar mínimo 182 gramos. Se refrigerarán hasta su análisis; si este no se realiza dentro de las primeras las 24 horas se congela.

De cada una de las 5 submuestras se toman 75 +/- 10 g (gramos) representativos y se forma una muestra de 375g +/- 10 g, esta se suspende en 3375ml (mililitros) de caldo de enriquecimiento (TSB + novobiocina + ácidos digeridos de caseína). Se agita durante 2 minutos e incuba a 35° +/- 1 C por 20 horas.

Existen distintos kits para la detección de *E. coli* O157:H7; como por ejemplo el "test Reveal" Screening de Test System Neogen (20 hour enrichment, AOAC Official Method N°2000.14) como ensayo inmunoabsorbente marcado con oro (GLISA) para alimentos seleccionados. Este cumple con los requisitos especificados anteriormente y pueden ser utilizados como técnica de tamizaje (screening). Las técnicas moleculares como aquellas basadas en PCR (BAX) también son recomendadas para este fin.

El método Reveal es el más utilizado por los frigoríficos. La muestra sembrada migra en una membrana de nitrocelulosa. En la primera porción se encuentra con una zona que contiene anticuerpos específicos conjugados con partículas de oro coloidal. En caso de estar presente el LPS O157, se forma un complejo antígeno-anticuerpo (marcado con oro) que migra desde la región de siembra hasta la zona de ensayo.

En la zona de ensayo se encuentra fijo un segundo anticuerpo contra el LPS O157. Este anticuerpo captura al complejo inmune conjugado con partículas de oro y revela una línea transversal visible de color rojo. El remanente de la muestra continúa migrando a través de la membrana de nitrocelulosa hasta la zona control, donde se encuentran anticuerpos anti-especie, que capturan y agregan los anticuerpos anti-O157 marcados con oro coloidal para formar una línea roja visible. Esta reacción es independiente de la presencia de *E. coli* O157 (AOAC, 2009).

Para la realización de este test se utilizan 4 gotas (120microlitros) de la preparación que se vierten en la ventana del dispositivo manteniendo el mismo a temperatura ambiente, en una superficie plana y a los 15 minutos se leerá el resultado.

#### **Cuadro X: Interpretación de resultados.**

Línea solo en zona C	Negativo
Línea en zonas C y T	Positivo potencial
Sin línea en zona C, c/s línea en zona T	Inválido

Fuente: AOAC, 2009.



**Figura VII: Test Reveal**

Fuente: Autor.

El resultado negativo indica ausencia de *Escherichia coli* O157:H7 en 375g de muestra analizada, en caso de ser positivo, esto se considera POTENCIAL POSITIVO.

Este potencial positivo se debe confirmar por un método separación inmunomagnética que podrá ser realizado en el laboratorio habilitado de la empresa o enviado a DILAVE y si da positivo se considera PRESUNTIVO POSITIVO.

Si en esta técnica da positivo DILAVE lo manda al Instituto de Higiene de la Facultad de Medicina, quienes son los únicos que confirman si es POSITIVO a *Escherichia coli* O157:H7 (Comunicación personal, Dra. Neirotti Vivian, 2011)

El método BAX® System multiplex (MP) de ensayo para *E. coli* O157: H7, es el utilizado para los controles oficiales, detecta tanto en la carne como en productos agrícolas. Este utiliza la energía de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con este ensayo multiplex para crear rápidamente (ampliar) millones de copias de fragmentos de ADN específicos de *E. coli* O157: H7 (Dupont, 2011).

## **Estrategias de control de *Escherichia coli***

### **Pre-sacrificio.**

La mayor parte de los esfuerzos realizados para controlar esta bacteria se han centrado a nivel industrial. Este es el punto en el cual se puede obtener los más notorios resultados previniendo la contaminación de las superficies de la carcasa o eliminando dicha contaminación una vez producida (VanOverbeke, 2007).

Sin embargo en los últimos tiempos se ha producido un aumento en el interés por el control en las etapas previas al sacrificio, particularmente en *Escherichia coli* O157:H7 (VanOverbeke, 2007).

Actualmente se considera que el control de *Escherichia coli* O157:H7 en el ganado bovino debe empezar dentro del establecimiento productor. Este podría ser uno de los puntos de intervención más importantes para disminuir la incidencia de infección en el hombre.

Para ello se cuentan con diferentes medios como ser vacunas, probióticos, bacteriófagos, y modificaciones en la dieta y su manejo; serían estrategias útiles para el control de EHEC en el ganado previo a su llegada a establecimiento de faena (Mercado, 2006):

- Vacunación: La inmunización es un reciente recurso de gran utilidad ya que al disminuir la carga en el rodeo vacuno disminuye la posterior posible contaminación en planta de faena. Los microbiólogos Vijay K. Sharma y Casey, T; desarrollaron dos novedosas vacunas para *E. coli* O157 en los laboratorios del Centro Nacional de Enfermedades Animales del Agricultural Research Service (ARS), USDA en Ames, Iowa (Wood, 2009).

Una de las dos nuevas vacunas contiene células de una de las cepas de *E. coli* que carece del gen conocido como *hha*. La segunda nueva vacuna contiene una cepa de *E. coli* que carece de ambos *hha* y otro gen llamado *sepB*. En cualquiera de las vacunas, la cepa de *E. coli* produce una gran cantidad de lo que se llaman proteínas inmunogénicas. Estas proteínas estimulan una respuesta inmunológica que previene la colonización exitosa de los intestinos del ganado por la bacteria *E. coli* O157:H7 (Wood, 2009).

- Probióticos: son suplementos consistentes en bacterias viables naturales que modifican el balance de la microflora intestinal con efectos beneficiosos para el animal y eliminan microorganismos que son peligrosos para el hombre. Se ha observado que algunas cepas de *Clostridium butyricum* y bacterias lácticas como *Lactobacillus casei* y *L. rhamnosus* tienen efecto protector evitando la infección por *E. coli* O157:H7 en ratón, conejo lactante y en células intestinales humanas *in vitro* (Mercado, 2006). Por otra parte, la administración de cultivos probióticos seleccionados de *Lactobacillus acidophilus* logró reducir la excreción de *E. coli* O157:H7 en bovinos (Zhao, 1998). Estos efectos podrían atribuirse a la producción de ácidos u otros metabolitos inhibidores de *E. coli* O157:H7, a la competencia por sitios de unión a la mucosa intestinal, o bien a una inducción de respuesta inmune de la mucosa (Mercado, 2006).

- Bacteriófagos: se ha propuesto que los bacteriófagos líticos específicos, aislados del rumen y contenido intestinal de bovinos y ovinos, pueden ser utilizados para disminuir la presencia de *E. coli* O157:H7 en una población mixta de bacterias (Sheng y col., 2006). Pero si bien la actividad *in vitro* de los bacteriófagos es elevada, se reduce en los ensayos *in vivo*. Además, el posible desarrollo de resistencia, hace que no se justifique actualmente el uso de este método para el control de *E. coli* O157:H7, aunque podría ser útil para disminuir la contaminación inmediatamente antes de la faena (Mercado, 2006).
- Modificación de la dieta: Otro método de control es por medio de cambios en dieta o manejo; estudio realizado por Callaway y col. (2003) en el cual se les cambia abruptamente la dieta del ganado pasando de maíz a forraje se observó una disminución en la población de *E. coli* genérico de hasta 1000 veces en pocos días; y menos animales excretaban *E. coli* O157:H7. Este cambio en la dieta pocos días antes del ingreso al frigorífico no afecta los parámetros de calidad de la carcasa.

Existen otros aspectos a controlar para disminuir la prevalencia ECEH previo a la llegada al establecimiento industrial como ser el transporte; ya que puede incrementar la prevalencia de *E. coli* O157 en el cuero de los bovinos y la contaminación cruzada puede aumentar significativamente (Sánchez, 2011). En un estudio realizado por Barham y col., (2002) se aisló 6% de *E. coli* O157 de las muestras de cuero de bovinos en una unidad de explotación dos semanas antes de ser transportados para su sacrificio. La positividad se incremento al 89% cuando los mismos animales arribaron al establecimiento.

Estudios realizados respecto a *E. coli* O157:H7 confirmaron que existe una correlación positiva entre carga microbiana en el corral y posterior en las carcasas. Es decir que si la carga microbiana de *E. coli* O157 en el corral aumentaba también aumentaba la media de contaminación de las carcasas. Destacándose en ese estudio que la mayor parte de la contaminación se produce en las etapas tempranas de la producción, indicando el cuero como principal responsable de la contaminación de las carcasas (Elder y col., 2000).

Un estudio publicado por Johnston (2009) señala que un 31% de los cueros del ganado eran contaminados en el corral de engorde y solo el 4% eran infectadas en la planta de sacrificio.

En un reciente trabajo realizado por Sargeant y col. (2004) se describieron los factores asociados con *E. coli* O157:H7 en heces bovinas. Entre los factores que se determinaron estaban en primer lugar la presencia de animales domesticos en corrales, segundo la presencia de *E. coli* O157:H7 en los tanques de agua, en tercer lugar el empleo de antibióticos en la ración de agua y otros como ser la humedad del corral, numero de animales en el mismo corral, velocidad del viento y altura de los comederos.

Prevenir la proliferación de la bacteria *E. coli* O157:H7 dentro del ganado bovino ayuda a limitar la contaminación subsiguiente de la carne en las instalaciones empacadoras, y reduce la excreción del microorganismo en la materia fecal. La bacteria *E. coli* que se elimina en la materia fecal puede ser trasladada por corriente de agua o lluvias y contaminar el agua potable. De este modo contamina el agua de riego y con esta, las frutas, verduras u otros cultivos (Wood, 2009).

Desafortunadamente, no existe un método de control efectivo al momento para los productores puedan reducir la prevalencia de EHEC O157 en carcasas. El desarrollo de estos métodos de control es un área de investigación activa en muchos laboratorios (Elder y col., 2000).

### **Post-sacrificio:**

A nivel industrial, las carcasas de vacunos pueden contaminarse con esta cepa de *E. coli* durante el proceso de producción industrial, principalmente en el momento que se retira el cuero de la carcasa e inadvertidamente este toca la superficie de la carcasa (VanOverbeke, 2007). El desollado (retiro del cuero) es momento determinante en la contaminación de la superficie de carcasa con *Escherichia coli* productora de toxina Shiga; principalmente en el momento de la remoción de la parte trasera es muy difícil que no se contamine la carcasa.

Es muy importante el diseño de la planta de faena y el manejo realizado por los operarios; procurando que aquellas carcasas a las que ya se les ha removido el cuero se encuentren lejos de aquellas que aún no. Así como también la limpieza y saneamiento de los equipos y utensilios y buen manejo e higiene del personal. Otro punto importante a controlar es en la evisceración donde la destreza del operario juega un rol fundamental (VanOverbeke, 2007).

Las prácticas actuales en las plantas de faena parecen reducir la contaminación de las carcasas con *E. coli* O157. Sin embargo, el desarrollo de estrategias adicionales enfocadas en prevenir la contaminación de la carcasa antes de la evisceración es necesaria ya que existe una correlación positiva entre la prevalencia de contaminación fecal y contaminación inicial de la carcasa (Thippareddi, 2011).

A nivel de industria; las estrategias efectivas para controlar *E. coli* O157:H7 deben incluir todos los métodos disponibles, limitar el crecimiento inicial, removerlas, prevenir su crecimiento y eliminarlas) para lograr mejores resultados (Maddock, 2009); llamado sistema de barreras. Este sistema incluye, la remoción de las bacterias que previene su fijación (requerimiento básico para la reproducción) por medio del recorte, lavado con agua caliente o fría (aunque menos efectiva) (Maddock, 2009) y la aplicación de lavados con chorros de vapor/vacio o pasteurización con vapor, logran remover las bacterias de la carcasa (VanOverbeke, 2007).

- El lavado de la carcasa con agua fría: este tiene por objeto remover la contaminación visible como ser pelos, sangre, heces y otros restos. Se han realizado estudios en los que se observó que este sistema no modifica de manera significativa la contaminación bacteriana de la carcasa. Confirmando que el lavado convencional no elimina *E. Coli* O157 (Bell, 1997). Se analizaron aislados de *Escherichia coli* O157:H7 (los cuales han causado brotes originados por el agua) y cepas nativas de *E. coli* para determinar su sensibilidad a la cloración. Ambas cepas, patógenas y no patógenas, fueron reducidas significativamente dentro de un minuto de exposición a cloro libre. Los resultados indicaron que los niveles que típicamente se mantienen en los sistemas de agua son suficientes para que estos microorganismos sean inactivados (Rice y col., 1999).
- Lavado de la carcasa con agua caliente: en los EE.UU las regulaciones de la FSIS señalan que la aplicación de agua caliente en las carcasas de bovinos que sea capaz de elevar la temperatura superficial de las carcasas a una temperatura por encima de 74°C durante más de 10 segundos, puede ser un tratamiento antimicrobiano efectivo (USDA, 1996). Los resultados varían de acuerdo al tiempo (segundos en contacto con la carcasa), distancia, temperatura y presión del agua.
- Trimming o recorte consiste en la remoción mecánica de cualquier contaminación visible, mediante cortes utilizando un cuchillo previamente higienizado. Debe ser realizado por empleados entrenados y consistentes. En un estudio realizado por Kochevar y col. (1997) se ha observado una reducción de 3,1 log UFC/cm<sup>2</sup> (Sánchez, 2011).
- Pasteurización a vapor o agua caliente (rocía rápidamente vapor sobre las canales), seguido de enfriamiento rápido. Es otro método que parece efectivo para eliminar la *E. coli* O157:H7. Aprobado por USDA debe dispensar agua/vapor a una temperatura superior a 74°C. Aumentando su efectividad a 82-85°C (Sánchez, 2011). Se ha reportado que el método a vapor logra reducir la bacteria en una proporción de 1000 veces (Sánchez y col., 1997). En planta la aplicación durante 6,5 seg a 82°C, posterior al lavado reduce la carga microbiana a niveles no detectables.

Prevenir el crecimiento dañando las células o creando un ambiente hostil para el microorganismo; como por ejemplo con la refrigeración, a 4°C estas bacterias requiere más de 100 horas para iniciar su reproducción. Aquellas bacterias que fueron dañadas por mecanismos de remoción les llevara más tiempo iniciar la reproducción .Además de la temperatura también se puede recurrir a zonas extremas de pH, alta concentración de sal, disminución de aw o adición de bacterias benéficas (Maddock, 2009).

Recientemente el uso de oxígeno activo como el ozono ha demostrado ser efectivo en la superficie de la carcasa. Incluso la tecnología de luz ultravioleta, puede dañar las células lo suficiente para que las bacterias mueran o no se puedan reproducir (Evrendilek y col., 2003).

La succión a vapor es otro método que remueve la contaminación visible y la profunda, reduce 2,1 log UFC/cm<sup>2</sup> (Sánchez, 2011)

Otra estrategia son los tratamientos químicos por ej., ácidos orgánicos, para descontaminar las carcasas. Esta práctica no está permitida para todos los destinos de exportación y además, los resultados del uso de lavados o intervenciones con ácidos orgánicos frente a *E. coli* O157:H7 muestran datos contradictorios (Michanie, 2003). Los ácidos orgánicos más utilizados son el láctico, acético y peroxiacético: entre 1 - 2,5 %, aprobado por USDA, no por la Unión Económica Europea; logrando reducciones de 1 -2 log, aumenta su efectividad aplicado con calor (50 o 60 °C). Las variantes a considerar son temperatura, presión, concentración y boquillas (Sánchez, 2011).

*Escherichia coli* O157:H7 es difícil de controlar porque se adapta y sobrevive a diversos ambientes. Este microorganismo puede permanecer viable durante meses tanto en las heces como en el suelo (VanOverbeke, 2007).

### **Tratamiento en humanos:**

Hasta el presente no existe una terapia específica para las infecciones por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (Gadea y col., 2009). Si bien, *E. coli* O157 es susceptible a la mayoría de los agentes antimicrobianos utilizados comúnmente, aún no se confirmó que la antibioticoterapia aporte algún beneficio para el paciente. Por el contrario, algunos autores demostraron que dicho tratamiento puede precipitar la evolución de CH a SUH, por ejemplo trimetoprima-sulfametoxazol y quinolonas estimulan la liberación de Stx *in vitro* (Zhang y col., 2000).

Tampoco se deben usar agentes antidiarreicos, que disminuyen la motilidad intestinal, pues estudios retrospectivos señalan un riesgo aumentado de evolución a SUH (Pistone y col., 2006).

Varias estrategias se han diseñado para tratar de disminuir o eliminar la probabilidad de desarrollar SUH posterior a infección con Stx. Entre las más efectivas se encuentran (i) Administración preventiva de vacunas genéticas; (ii) inmunización pasiva mediante la administración de anticuerpos monoclonales neutralizantes de la toxina Shiga; (iii) desarrollo de una cepa recombinante de *Neisseria*, que expresa en su superficie un receptor que imita a Gb3 y neutraliza varios tipos de toxina Shiga en el lumen intestinal y (iv) la neutralización de la Stx en la circulación mediante la administración intravenosa de SUPERTWIG (Balseiro, 2006).

De todas estas terapias promisorias por el momento la más exitosa es la planteada por Paton y col. (2000); en dicho estudio se elaboró una bacteria recombinante, mediante la modificación genética de cepas no patógenas de *Neisseria*, que expresa en su superficie un receptor que imita al receptor Gb3 de la toxina Stx. Se demostró que esta bacteria adsorbió y neutralizó varios tipos de toxinas Shiga en el lumen intestinal evitando su pasaje al torrente sanguíneo y de allí a sus células blanco.

### **Recomendaciones generales para la prevención de *Escherichia coli* O157:H7**

Al igual que para otros agentes patógenos, tener animales y productos crudos libres de STEC es prácticamente imposible. A pesar de ello, los riesgos pueden ser disminuidos aplicando buenas prácticas de manufactura y de higiene, y estableciendo puntos críticos de control durante toda la cadena de producción del alimento. Así como también las buenas prácticas de higiene de los consumidores son claves en la prevención.

- Faenar animales limpios externamente y evitar contaminación fecal durante la faena u ordeño en caso de tambo.
- Aplicar ácidos orgánicos o pasteurización superficial de las reses.
- Capacitación de los manipuladores, personas a cargo de jardines de infantes, hogares de ancianos, restaurant y consumidores en general.
- Irradiar carne con radiación ionizante.
- Cocinar profundamente los alimentos (alcanzar los 71,6°C en profundidad).
- Evitar contaminación cruzada.
- Usar conservadores permitidos y efectivos contra ECEH.
- Potabilizar el agua y usar solo esta agua para producir y preparar alimentos
- Clorar agua de piscinas, utilizar servicios de agua recreacionales autorizados.
- Correcta eliminación de agua residuales
- Mantener los alimentos refrigerados.
- Eliminación de plagas a nivel doméstico e industrial.
- Lavar cuidadosamente las frutas y verduras
- Asegurar la correcta higiene con agua y jabón de manos y utensilios de cocina, antes, durante y después de la preparación de los alimentos y manipulación de carne cruda; y luego del contacto con animales en granjas educativas, zoológicos y/o mascotas.

(Rey, 2005), (OPS, 2011).

## ***Escherichia coli* no- O157**

Existen más de 50 serotipos de *Escherichia coli* no-O157 asociados a enfermedad humana.

Si bien la mayoría de los estudios están orientados a la detección de *E. coli* O157, en la actualidad aumentaron los esfuerzos para detectar los diferentes serotipos de STEC. A diferencia de lo que ocurre con O157, que no fermenta el sorbitol y no posee actividad de  $\beta$  - glucuronidasa, los serotipos no-O157 de STEC no presentan marcadores fenotípicos. Por lo tanto, para su aislamiento, se requiere la aplicación de estrategias más complejas (Masana y col., 2009) lo cual lleva a la sobrenotificación y aislamiento de O157 sobre no-O157.

En los años 1990, cepas de ECEH de otros serogrupos, tales como O26, O103 y O111, se vincularon cada vez más con la enfermedad humana (FAO, 2003) Según se declara en un informe de la OMS (1998); sin embargo, la mayoría de los laboratorios clínicos no realizan ensayos de identificación de rutina para ECEH no del grupo O157, debido a la ausencia de un marcador bioquímico (Mead y col., 1998).

### **Cuadro XI: Comparación entre ECEH O157 y ECEH no-O157.**

Características	ECEH O157	ECEH no-O157
Fermentación de lactosa	+	+ o -
Fermentación de sorbitol	-a	+ o -
Crecimiento a 44°C	-	+ o -
Crecimiento en presencia de telurito y cefixima	+a	+ o -
$\beta$ -glucuronidasa	-a	+
Verotoxinas	VT2 VT1-VT2	VT1 VT2 VT1-VT2
Gen <i>eae</i>	+	+ o -
Plásmido pCVD419	+	+ o -
Enterohemolisina (EntHly)	+	+ o -

a-Se han detectado algunas cepas capaces de fermentar el sorbitol y  $\beta$ -glucuronidasa +; y también algunas cepas que no son capaces de crecer en presencia de telurito y cefixima.

Fuente: Blanco y col., 2003.

Los métodos diagnósticos para identificar ECEH del grupo no-O157 no son comúnmente disponibles en la mayoría de los laboratorios; consecuentemente las infecciones originadas por estos patógenos muchas veces no son confirmadas. Recientemente, se han desarrollado nuevos métodos de detección para los grupos O103, O111, O26 y O145; estos avances pueden facilitar la colección de más datos sobre la frecuencia y significado de estos serotipos relacionados con la enfermedad transmitida por los alimentos (FAO, 2003).

Mead y col. (1999) ha calculado que la incidencia de ECEH del grupo no-O157 es de entre 20% y 50% de la de infección por *E. coli* O157:H7. Ya que *E. coli* O157:H7 actualmente es el serotipo de ECEH más importante para la salud pública y debido a la carencia actual de datos epidemiológicos para ECEH del grupo no-O157 (FAO, 2003).

#### **Cuadro XII: Serotipos aislados en distintos brotes de ECEH en EEUU**

STEC o antígeno	Número de casos	Rate (prevalencia)
O26	68	0,15
O103	47	0,10
O111	35	0,08
O121	10	0,02
O45	8	0,02
O145	6	0,01
O124	5	0,01
O118	4	0,01
O69	3	0,01
O128	2	0,00

Fuente: Thippareddi, 2011.

En un estudio realizado por Masana y col. (2009) en Argentina se determinó que la prevalencia de STEC no-O157 en las plantas de faena osciló entre el 12 y el 27%, donde la mayoría de las cepas STEC no-O157 aisladas provenían de la materia fecal y los serotipos de STEC no-O157 son responsables de aproximadamente el 30% de los casos de SUH post-entérico.

La contaminación con STEC no-O157 en los frigoríficos de Argentina es relevante siendo además su gran mayoría relacionados a enfermedad humana; entre otros O145, O103 y O111 señalados como los de mayor riesgo y O113:H21 y O91:H21 de menor riesgo (Masana y col., 2009).

**Cuadro XIII: Principales brotes asociados a infección por *Escherichia coli* no-O157 productor de toxina Shiga en el mundo.**

AÑO	PAIS	NºCASOS	SUH	SERTIPOS
1984	Japón	100	0	O145:NM
1986	Japón	22	1	O111:NM
1988	Checoslovaquia	5	5	O26:H11/NM 01:HNT O157:H7
1991	Japón	234	0	O111:NM
1991	Japón	89	0	ONT:H19
1992	Italia	9	9	O111:NM
1994	EEUU	7	0	O104:H21
1995	Australia	200	22	O11:NM
1995	España	13	13	O11:NM
1996	Japón	3	0	O103:H2
1999	EEUU	55	2	O111:H8
1999	EEUU	11	3	O121:H19
2000	Alemania	11	0	O26:H11
2003	Argentina	80	1	O26:H11 O103:H2

Fuente: OPS, 2011.

### **Incidencia a nivel mundial**

*Escherichia coli* O157:H7 se encuentra distribuida por todo el mundo, en todos los continentes, sin importar el nivel de desarrollo de los países afectados.

En Europa continental las infecciones por cepas STEC no-O157 son más frecuentes, mientras que en Gran Bretaña STEC O157 aparece asociado a casos esporádicos y brotes, fundamentalmente por productos cárnicos. En Escocia en 1996 un gran brote afectó a 500 personas y causó 20 muertes principalmente personas de avanzada edad que recibieron sándwiches de carnes preparados por un cocinero local (Lound, 2007).

En el continente asiático hay pocos reportes de infecciones por STEC O157, salvo en Japón a partir del brote masivo con más de 10.000 afectados en 1996, posiblemente por falta de sistemas de vigilancia. En Australia las infecciones por STEC no-O157, fundamentalmente O111:NM, son más frecuentes que las de O157. Teniendo gran relevancia el ovino como portador (OPS, 2011)

En Canadá, la incidencia de las infecciones por *E. coli* O157:H7 es de 5,3 casos/100.000 habitantes; en este país los principales factores de riesgo son: el consumo de carne picada mal cocida, contacto directo con el ganado, agua de consumo contaminada y un medio ambiente rural contaminado. (OPS, 2011).

El primer brote epidémico importante ocurrió en los EEUU, por el consumo de hamburguesas insuficientemente cocidas en la cadena de comida rápidas “Jack in the Box” en 1993, con 700 casos, 151 hospitalizados, 45 con SUH y 4 muertos (Gil y col, 2004) Este brote originó importantes cambios en la legislación alimentaria de ese país, se modificaron las normas elevando la temperatura de cocción de hamburguesas y se obligó a pasteurizar los jugos de frutas (OPS, 2011). Así como también la implementación de sistema HACCP y el control de peligros asociados a ECEH (Lound, 2007).

Las estadísticas señalan que anualmente en los Estados Unidos ocurren 73.400 casos de infecciones con *E. coli* O157:H7 y aproximadamente 60 muertes (Schroeder y col., 2002).

Para EEUU las grandes requisas de carne son una historia reciente que ocasionó enormes pérdidas económicas. Miles de kilos de carne fueron requisados de las fabricas de hamburguesas al detectarse que estaban contaminados por *E. coli* O157 (Bosilevac, 2010).

Recientemente el 03 de octubre de 2011; el mayor procesador de carne estadounidense, Tyson Fresh Meats dispuso la retirada del mercado de 290.000 kilos de carne vacuna molida vendida en 14 estados tras un brote de la bacteria *E. coli* O157:H7 en Ohio. La medida abarca desde Nueva York hasta Texas, y esta se llevó a cabo por el hallazgo de la bacteria *E. coli* en carne vacuna picada consumida por una familia de la zona de Cincinnati, Ohio, donde el más afectado fue un niño quien tuvo que pasar 10 días en el hospital, comunicó el periódico *Cincinnati Enquirer* (Sulluchuco, 2011).

En Alemania, cepas de *E. coli* O157:NM, sorbitol +,  $\beta$ -glucuronidasa +, son causa frecuente de casos esporádicos y brotes de diarrea y SUH. El 22 de mayo del corriente año, Alemania informó de un aumento significativo en el número de pacientes con síndrome urémico hemolítico (SUH) y diarrea con sangre causados por *E. coli* productor de toxina Shiga (STEC). Los resultados de laboratorio indicaron como agente causal a STEC serotipo O104:H4, o más precisamente, una cepa de *E. coli* enteroagregativa productora de toxina Shiga (EAggEC STEC) O104:H4, siendo esta la primera vez en aislarse en un brote. El origen del brote se encuentra bajo investigación, pero la contaminación de vegetales crudos parece ser la fuente más probable de la infección (Ministerio de Salud de la Nación, República Argentina, 2011).

En dicho brote se registraron: 809 casos de SUH en los Estados Miembros de la Unión Europea, incluyendo 23 defunciones; y 773 casos y 22 defunciones en Alemania. De los casos de SUH registrados en Alemania, el 68% se dieron en mujeres y un 88% en adultos de 20 años o más (Askar y col., 2011).

En un informe emitido por el Instituto Roberto Koch de Berlín, Alemania (2011) se señala a este brote de SUH como uno de los más grandes que se haya descrito a nivel mundial y el brote más grande jamás registrado en Alemania. La fecha de inicio de los síntomas corresponde al 1º de mayo y la última hasta el momento de redacción de este informe, el 04 de junio. La mayoría de los casos son residentes o tienen antecedentes de viaje a Alemania durante el período de incubación. Los otros países con casos reportados son: Austria, Dinamarca, España, Finlandia, Francia, Luxemburgo Noruega, Países Bajos, Polonia, Suecia, Suiza, Reino Unido y República Checa.

Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) informaron que hasta el 10 de junio de 2011, identificaron 3 casos de SUH (1 confirmado de STEC O104:H4) y 2 diarreas sanguinolentas sospechosas de STEC en personas con antecedente de viaje a Hamburgo, Alemania, donde probablemente estuvieron expuestos. Asimismo, la Agencia de Salud Pública de Canadá informó el 7 de junio de 2011 sobre la detección de un caso sospechoso de STEC O104 en un ciudadano canadiense con antecedente de viaje al norte de Alemania (Ministerio de Salud de la Nación, República Argentina, 2011).

El martes 26/07/2011 el presidente del Instituto Robert Koch (Berlin, Alemania), organismo público responsable del control y la prevención de enfermedades en Alemania Reinhard Burger , declaró el fin del brote de la bacteria '*E. coli*', que ha causado la muerte de más de 50 personas, ya que hacía tres semanas que no se habían detectado más casos.

La protección de alimentos en América Latina, se ha desarrollado mediante progresivos esfuerzos ejecutados por los países, que han sido motivados por una renovada inquietud para obtener inocuidad, en el consumo para el mercado interno y en un consecuente crecimiento para el acceso al comercio internacional de los mismos (Acuña y col., 2002)

**Cuadro XIV: Principales brotes asociados a *Escherichia coli* O157:H7 en el mundo.**

Lugar	Fecha	Nº Casos	Nº SUH	Mortalidad	Tipo de brote	Fuente
Oregón/EEUU	2/82	26	0	0	Comunidad	Hamburguesas
Michigan/EEUU	5/82	21	0	0	Comunidad	Hamburguesas
Nebraska/EEUU	9/84	34	1 (2,9)	4 (11,8)	Geriátrico	Hamburguesas

Notario/ Canadá	9/85	73	12 (16,4)	19 (26)	Geriátrico	Sándwiches
Notario/ Canadá	4/86	30	3 (10)	0	Geriátrico	Leche cruda
Utah/EEUU	6/87	51	-	-	Escuela	Carne molid
Missouri/EEU U	12/89	243	2 (0,8)	4 (1,6)	Cárcel	Agua
Washington, Idaho, California, Nevada. EEUU	11/92 a 2/93	559	41 (7,3)	4 (0,7)	Comunidad/ Multiestado	Hamburgues as
Washington/E EUU	11/94	20	1 (5,0)	0	Comunidad	Embutido seco
Suecia	95 al 96	99	24 (24,2)	0	Comunidad	Carne
Washington, California, Colorado, Columbia Británica EEUU., Canada	10/96	45	12 (26,7)	0	Comunidad/ Multiestado	Jugo de manzana pasteuriza do
Escocia	96	496	0	19 (3,8)	Comunidad	Carne
Japón	96	9451	101 (1,1)	12 (0,1)	Escolares	Vegetales, carne y pescado
España	2000	158	6 (3,8)	0	Escolares	Salchichas
Argentina	2004	4	1	0	Jardín Infantiles	Agua recrea cional

Fuente: OPS, 2011.

En Argentina la incidencia de SUH es de 15/100.000 niños menos de 5 años, es decir, 3 veces mayor que en Uruguay y 5 veces mayor que en Chile. En Argentina es endémico presentándose 400 nuevos casos al año, siendo de denuncia obligatoria desde el año 2000. Mientras que países como Bolivia y Paraguay aún no hay datos oficiales (Rivas y col., 2006).

En Argentina es la primera causa de insuficiencia renal aguda en la edad pediátrica y la segunda de insuficiencia renal crónica. El SUH es responsable del 20% de los trasplantes renales en niños y adolescentes. En estudios realizados en la década del 90, se encontraron evidencias de infección por STEC en 59% de los casos de SUH, y *E. coli* O157 fue el serotipo prevalente (Ministerio de Salud de la Nación República Argentina, 2011).

Recientemente el USDA informó que el porcentaje de muestras de carne vacuno picada que dieron positivo a *E. coli* O157 disminuyó más de 80 % desde el 2000 incluyendo una reducción anual del 43,3 entre 2003 y 2004 “creo que este dato ilustra por sí mismo hasta donde hemos llegado” Jim Mac Adams Presidente de la National Cattlemen’s Beef association (BIFSCo) (VanOverbeke, 2007).

Según datos resumidos por FoodNet (Foodborne Diseases Active Surveillance Network) sugiere que la incidencia por infecciones provocadas por *E. coli* O157:H7 continúa decreciendo desde el 1996 al 2004 (VanOverbeke, 2007).

Uno de los principales problemas que presenta el control de las ETA es la falta de registro. Se estima que en los países industrializados sólo se informa el 10% de los casos, mientras que en los países en vías de desarrollo la relación entre los casos ocurridos y aquellos informados es de 100 a 1 (OPS, 2011).

## **Incidencia e Investigación en Uruguay**

En Uruguay se registran un promedio de 26 brotes de ETA anualmente, no habiéndose aislado o identificado nunca como causante a *Escherichia coli* O157:H7 (Gil y col., 2004) pero sí casos esporádicos de SUH, con una incidencia anual estimada en 5 casos cada 100.000 y serían 15 casos nuevos por año (Gadea y col., 2004).

En Uruguay STEC no sería agente frecuente de diarrea con sangre en niños. Sin embargo, las cepas recuperadas presentaron los genes asociados con enfermedad severa y 2 de los 3 niños infectados con STEC evolucionaron a SUH. La carne picada y otros alimentos serían vehículos importantes de O157:H7 (Varela y col., 2008).

Los primeros cultivos de ECEH aislados de casos de SUH en Uruguay eran de serogrupos O111, O26 y O145. Pese a la importancia de O157:H7 como serotipo STEC causante de enfermedad esporádica y de brotes en muchos países, las cepas STEC O157 no habían sido hasta el momento asociadas con casos de diarrea con sangre o SUH en Uruguay (Gadea y col., 2004).

En mayo de 2002 se aisló por primera vez en Departamento de Bacteriología y Virología del Instituto de Higiene de la Facultad de Medicina Uruguay, *Escherichia coli* O157:H7, productora de toxina Shiga a partir del coprocultivo de una niña de 16 meses procedente de Melo, con diagnóstico de SUH (Gadea y col., 2004).

Estudios efectuados por Gadea y col., realizados entre 2002 y 2009 con 198 niños con diarrea sanguinolenta y 14 niños con síndrome urémico hemolítico (causado por la *E. coli*), 412 muestras de rumiantes y 220 muestras de carne picada. En el estudio se detectaron cinco cepas de la toxina Shiga en muestras de origen humano y 15 cepas en muestras de alimentos (cuatro de carne picada y 11 de otros productos).

Del total de rumiantes estudiados se aislaron 230 cepas a partir de 173 animales, es decir que varios animales portaban distintas cepas de *Escherichia coli*. Lo positivo fue que en el caso de los animales el 90% de las cepas era susceptible a los antibióticos ensayados. No obstante 3,5% de las 230 cepas estudiadas provocan diarrea con sangre en humanos.

A nivel de los humanos y alimentos sí se detectó la presencia de *E. coli* O157:H7, la cual es resistente a los antibióticos. Se confirmó que uno de los vehículos de transmisión de esta toxina es la carne picada sin cocinar. Por esta razón es fundamental una buena higiene de los alimentos y en el caso de la carne, en especial las hamburguesas, que las mismas reciban hasta 62°C en el centro para destruir la bacteria, si se encontrara presente.

Mejoras en el tratamiento clínico (sintomatológico) han disminuido la mortalidad de un 50% a un 1 % en 30 años, pudiendo quedar hasta un 30% de enfermos crónicos. No existe un tratamiento específico lo único es el control y la prevención (Gadea y col., 2009).

Otro de los estudios más relevantes sobre *Escherichia coli* O157 realizado en nuestro país por Gil y col (2004): Estimación de límites superiores de riesgo para *Escherichia coli* O157:H7 en carnes rojas de Uruguay. En este estudio los resultados de todos los análisis fueron negativos, no detectándose *E. coli* O157:H7 en ninguna partida de carne producida con destino NAFTA. Con lo que concluye que la prevalencia de dicho patógeno es de aproximadamente 0,25% lo cual es muy bajo; afirmando que si bien el riesgo no es 0 se aproxima mucho a ese valor. Sin embargo según Thippareddi (2011) estudios en EEUU sobre cortes de carne bovina importada y local utilizada para carne picada confirmaron de 256 muestras de carne de origen uruguayo, 40 positivas a *E. coli* O157 y 52 STEC aislados.

Se está desarrollando actualmente un proyecto conjunto donde participan INAC, Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), MGAP- División de Laboratorios Veterinarios (DILAVE), Facultad de Veterinaria y Laboratorio tecnológico del Uruguay (LATU) que fue aprobado en setiembre de 2010 por la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII) titulado "Prevalencia pre-faena de *E. Coli* O157:H7 en la cadena cárnica y su asociación con los sistemas productivos del Uruguay, como insumos para el desarrollo de estrategias de prevención y mejor posicionamiento del mercado". Dicho proyecto se enmarca en el "Fondo INNOVAGRO" y tiene una duración total de 24 meses. En el mes de marzo de 2011 comenzó el muestreo de heces bovinas en todo el país, actividad que demandará de 12 meses de trabajo.

### **Normativa existente en nuestro país**

La base de la normativa alimentaria uruguaya está basada en el Reglamento Bromatológico Nacional, Decreto N° 315/994 del 05/07/1994. Este documento originalmente no hacía referencia específicamente a *Escherichia coli* O157 ni a otras posibles cepas productoras de toxina Shiga en carnes (Reglamento Bromatológico Nacional, 1994). Posteriormente el Decreto No. 215/006 del Poder Ejecutivo de 3 de julio de 2006, modifica la normativa en materia de carne picada que se elabore en carnicerías, determinando entre otros puntos los parámetros microbiológicos donde incluye ausencia para *Escherichia coli* O157:H7 (INAC, 2006).

Aunque se reconoce que el MSP, es el órgano legalmente competente por ley, para el dictado de las normas y los decretos respectivos. El MGAP tiene competencia para el control en el sector primario, para las diferentes etapas de industrialización de los productos cárnicos, pero no en la comercialización. Existen otros organismos que actúan en el mismo sector con funciones superpuestas (INAC, Intendencias Municipales y MSP) (Casaux, 2006).

Uruguay integró a partir del año 2008 el SUH al grupo A de enfermedades de denuncia obligatoria en el día (evento inusitado) de las Enfermedades de denuncia obligatoria al MSP en Uruguay (Gadea y col., 2009), por lo cual es un campo relativamente nuevo de estudio y registro de casos.

La Modalidad de la vigilancia para las enfermedades de denuncia obligatoria que se encuentran en el grupo A obliga a realizar la denuncia del caso dentro de las primeras 24 hs de la sospecha a la UVISAP del Ministerio de Salud Pública, por vía telefónica, fax o e-mail. Para lo cual existe un protocolo a seguir en la Guía ETA del MSP, Uruguay (MSP, 2006).

MGAP es quien tiene competencia para el control en las diferentes etapas de industrialización de los productos cárnicos. Desde el año 1999 como parte de los acuerdos comerciales para exportar carne a los EEUU, Uruguay debió implementar un plan de muestreos de *Escherichia coli* de las producciones con destino a América del Norte (Gil y col, 2004).

El MGAP el 1° de enero de 2008 implemento el Programa de Control de *Escherichia coli* O157:H7 en carne bovina cruda en recorte (trimming) y/o carne sin hueso que puedan destinarse a preparar carne picada, producida en establecimientos habilitados para exportar a los Estados Unidos de América. Los documentos de referencia de este programa son: el Decreto 369/983 Reglamento Oficial de Inspección Veterinaria, Circular 9/2002 de la División de Industria Animal sobre *Escherichia coli* O157:H7 y Comunicados del FSIS (Noticies).

El programa incluye las siguiente actividades: 1. Plan de muestreo., 2. Gestión de resultados., 3. Plan de muestreo de seguimiento: privado y oficial., y 4. Capacitación (personal privado y oficial).

El responsable del programa es la División de Industria Animal, a través del Departamento Establecimientos de Faena (DEF), Departamento técnico (DT) y Departamento de Control del Comercio Internacional (DCI) (Anexo A).

Posteriormente el 25 de noviembre de 2008, MGAP emite un comunicado (DGSG/RG/ N°92/2008) donde informa que FSIS/USDA ha reconocido la equivalencia del programa de control del patógeno, implementado por Uruguay (MGAP, 2008).

A este programa se le anexa información complementaria de la circular 4/2007 (27 de diciembre de 2007) sobre el Programa de Control de *Escherichia coli* O157:H7 en carne bovina, donde se hacen especificaciones respecto a: Definición de lote, Rotulación y Certificado Oficial de Transferencia de Exportación (COTE) (MGAP, 2007). Complementario a este se emite Circular 3/2008 (24 de diciembre de 2008) con más especificaciones respecto al loteo de la producción destinada a EEUU teniendo en cuenta el Programa de Control de *Escherichia coli* O157:H7 en carne bovina (MGAP, 2008).

Esto es aplicable para establecimientos habilitados para exportar a EEUU; aproximadamente el 90% de los establecimientos frigoríficos habilitados por MGAP están habilitados para exportar a EE.UU (Comunicación personal, Dra.González, D.M, 2011) Por lo tanto la carne destinada a consumo interno proviene de la faena de establecimientos con habilitación a mercados de alta exigencia, por lo tanto es muy pequeño el volumen de carne bovina que no está bajo el control de este programa.

En cuanto a las cepas no-O157, se encuentra en estudio en el MGAP la incorporación de las mismas al Programa de Control de O157 (Comunicación personal Dra. Dora Martha González, 2011); ya que el gobierno de EEUU anunciara el 12 de setiembre del corriente año que comenzará a hacer pruebas a partir de marzo 2012 año para detectar otros seis tipos de la bacteria *E. coli* en carne picada cruda y en carne tiernizada con el fin de proteger mejor a los consumidores y prevenir enfermedades (AFP, 2011).

Actualmente, Estados Unidos hace pruebas para detectar una cepa de *E. coli* (la O157:H7) en carne, pero a partir de marzo de 2012, la carne cruda que de resultado positivo en los serogrupos de *E. coli* O26, O103, O45, O111, O121 y O145 será prohibida en el mercado (AFP, 2011).

La industria frigorífica debe tener un plan HACCP desarrollado e implementado adecuadamente para exportar a los mercados internacionales como EE.UU; considerando en el análisis de peligros a *Escherichia coli* O157.

En la circular 9/2002 del MGAP, DGSG, DIA con fecha de 9 de diciembre de 2002. Referencia: "Revisión de planes HACCP a la luz de la evidencia científica sobre *Escherichia coli* O157:H7". Especifica que los establecimientos habilitados para exportar a EEUU que debieron implementar un plan de Análisis de peligros y control de puntos críticos (HACCP) de acuerdo a lo establecido por la DIA el 19 de noviembre de 1997 y 1° de diciembre de 1998. Deberán ser revisados y tomar en cuenta el peligro de contaminación con *Escherichia coli* O157:H7, a partir del 1° marzo de 2003 (Anexo C).

Recientemente, el 09/09/2011 la FSIS Noticias N°49-11 informo que se suspende la exigencia de análisis de *Escherichia coli* O157:H7 en productos listos para consumir (embutidos fermentados secos, semisecos y empanadas de carne cocida), ya no será obligatorio el análisis de *E. coli* O157 para exportar productos cárnicos listos para consumir a EE.UU. Esto se debe a un análisis de los muestreos realizados a estos productos desde 1994 donde se observa ausencia de *E. coli* O157 en estos productos (cero resultado positivo a *E. coli* O157) (Anexo B).

A partir de del 9 de enero de 2009, comunicado MGAP circular 1/2009; las exportaciones de carne corte trimming y/o carne sin hueso que puedan destinarse a preparar carne picada, producida en establecimientos habilitados para exportar a Canadá deberán cumplir con todos los documentos emitidos por DGSG y DIA con referencia a controles de *Escherichia coli* O157:H7. Por lo tanto participan del "Programa de Control de *Escherichia coli* O157:H7 en carne bovina" (MGAP, 2009).

Otro punto importante es el dispuesto en la circular 6/2008 respecto a la habilitación de los establecimientos a exportar a EEUU; para mantener la categoría los muestreos deben realizarse independientemente de si el establecimiento está realizando o no producción para mercado de EEUU.

## **CONCLUSIONES**

De acuerdo a los datos recabados a lo largo de esta revisión podemos concluir que estamos frente a uno de los más relevantes patógenos emergentes a nivel mundial: *Escherichia coli* O157:H7, ya que se encuentra distribuido en todo el mundo con graves secuelas como el SUH, pudiendo llegar a la muerte siendo los niños menores de 5 años y ancianos los más propensos.

Estudios realizados en nuestro país han confirmado la presencia de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga y otras STEC en alimentos y en muestras de materia fecal de animales y humanos, determinándose una baja incidencia de la misma. Por lo que considero de vital importancia la educación en prevención de los consumidores, ya que como hemos visto Uruguay es el número uno consumo per cápita de carne bovina, con marcada preferencia a la carne picada, que es la principal vía de transmisión de esta ETA.

En consecuencia a la alta incidencia de esta ETA en EE.UU que lo llevó a modificar su normativa haciéndose día a día más exigente, se ha visto reflejado directamente en nuestro país que en marco de cumplimiento de las exigencias del mercado (EE.UU y Canadá) ha ido modificando y ampliando su normativa a través de resoluciones del MGAP respecto a este patógeno.

Por lo tanto ante la evidencia de la presencia de *Escherichia coli* O157:H7 y otras STEC en nuestro medio y considerando la estrecha relación cultural y económica de nuestro país con la carne bovina considero fundamental interés se continúe con la investigación y difusión de esta temática a nivel universitario y continuar con los controles y métodos de prevención a lo largo de toda la cadena cárnica ya que la ocurrencia de un brote o la comercialización de carne contaminada afectaría gravemente la salud del consumidor y además ocasionaría un gran daño a la industria y economía de nuestro país.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Acuña, A. M., Alfonso, A., Algorta, G., Anchieri, D., Bentancor, L., Chabalgoity, A., Chiparelli, H., Da Silva, A., Deambrosis, N., Ferrari, A.M., Gadea, P., Gularte, E., Legani, M., Linder, C., Macedo, M., Martínez, A., Mateos, S., Mattera, A., Medina, D., Montano, A., Odizzio, M., Pérez, M., Repiso, M., Rodríguez, G., Salvatella, R., Sabio, M., Schelotto, F., Torres, M., Varela, G., Vicentino, W. (2002) Enfermedades transmitidas por alimentos en Uruguay. [s.l.]: Panalimentos, OPS. 203 p.
2. Agence France Presse (AFP) (2011). EEUU hará pruebas para detectar 6 tipos de la bacteria *E. coli* en carne. Disponible en: <http://www.eleconomista.net/tendencias/63-ciencia-tecnologia/128531-eeuu-hara-pruebas-para-detectar-seis-tipos-de-la-bacteria-e-coli-en-carne.html>. fecha de consulta: 03/10/2011.
3. Algorta, G., Schelotto, F. (2008). Montevideo, Uruguay. Principales grupos de bacilos gramnegativos no exigentes. CEFA. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/gramnegativosnoexigentes.pdf> .315p Fecha de consulta 07/03/2010.
4. AOAC (2009) Sistema de prueba para *E. coli* O157:H7, Reveal microbial screening test. Cincinnati, Neogen Corporation. 5 p.
5. Armstrong, G.L., Hollingaworth, J., Morris, J.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.
6. Askar, M., Faber, M.S., Frank, C., Bernard, H., Gilsdorf, A., Fruth, A., Prager, R., Höhle, M., Suess, T., Wadl, M., Krause, G., Stark, K., Werber, D. (2011) Update on the ongoing outbreak of haemolytic uraemic syndrome due to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) serotype O104, Germany. Disponible en: <Http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19883>. Fecha de consulta: 14/06/2011.
7. Balseiro, M.V. (2006) Patogenia de la infección causada por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) O157:H7. Tesis de grado, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. 91 p.
8. Barham, A.R., Barham, B.L., Johnson A.K., Allen D.M., Blanton, J.R., Miller, M.F. (2002) Effects of the Transportation of Beef Cattle from the Feedyard to the Packing Plant on Prevalence Levels of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* spp. *Journal of Food Protection* 65(2): 280-284.
9. Bell, C., Kyriakides, A. (1998) *E. coli*: una aproximación práctica al microorganismo y su control en los alimentos. Zaragoza, Acribia 234 p.
10. Bell, R.G (1997) Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. *Journal of Applied Microbiology* 82:292-300.

11. Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., Gonzalez, E., Bernárdez, M.I., Alonso, M.P., Coira, A., Rodriguez, A., Rey, J., Alonso, J., Usera, M. (2003) Verotoxin-producing *Escherichia coli* in Spain: prevalence, serotypes, and virulence genes of O157:H7 and non-O157 VTEC in ruminants, raw beef products, and humans. *Experimental Biology and Medicine* 228: 345-51.
12. Blanco, M., Blanco, J. E., Mora, A., Alonso, M.P., González, E. A., Blanco, J. (2009) Métodos empleados para la detección de ECVT en alimentos y muestras clínicas. Disponible en: <http://www.lugo.usc.es/ecoli/METODOS.html>. Fecha de consulta: 20/08/2011.
13. Boerlin, P., McEwen, S., Boerlin-Petzold, F., Wilson, J., Johanson, R., Gyles, C. (1999) Associations Between virulence factors of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and disease in humans. *Journal of Clinical Microbiology* 37(3): 497-503.
14. Bosilevac, M. (2010) Instan a priorizar detección de bacteria *E. coli* en bovinos. *Diario El País* 29/11/2010. Montevideo, Uruguay.
15. Bosilevac, M. (2011) “*Escherichia coli* será la principal traba en el futuro para las exportaciones de carne” Disponible en: <http://www.noticiasrurales.com.uy/index.php?s=Basilevac>. Fecha de consulta: 10/03/2011.
16. Buchanan, R., Edelson, S. (1996) Culturing enterohemorrhagic *Escherichia coli* in the presence and absence of glucose as a simple means of evaluating the acid tolerance of stationary-phase cells. *Applied and Environmental Microbiology* 62(11):4009-4013.
17. Buchanan, R.L., Doyle, M.P. (1997) Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *E. coli*. *Food Technology* 51(10): 69-76.
18. Buncic, S. (2006) Seguridad alimentaria integrada y Salud pública veterinaria. Zaragoza, Acribia 414 p.
19. Cabrera, S., Hernandez, O. (2007) Enfermedades emergentes y reemergentes, Cátedra de enfermedades infecciosas. Disponible en: <http://www.infectologia.dcmecina.edu.uy/UserFiles/File/ENFERMEDADES%20EMERGENTES%20Y%20REEMERGENTES.pdf>. Fecha consulta: 18/10/2011.
20. Callaway, T.R., Elder, R.O., Keen, J.E., Anderson, R.C, Nisbet, D.J., (2003) Forage feeding to reduce preharvest *Escherichia coli* populations in cattle. *Journal of Dairy Science* 86: 852-880.
21. Casaux, G. (2006) Régimen Jurídico de las Enfermedades Transmisibles por Alimentos. *Carnes & Alimentos* 18(7):30-32.

22. Chin, J. (2001) El control de las enfermedades transmisibles. 16ª ed. Washington. OPS 748 p.
23. Costas, G., Herrera, V., Correa, C. (2010) Conociendo las preferencias de consumo de carnes en Uruguay. Instituto Nacional de Carnes (INAC). Serie Técnica 48, 56p.
24. Dey, J. (2007) Carne bovina enfriada al vacío – 44000 ton- Técnico-práctico. Buenos Aires, Akian Grafica 62p.
25. Doyle, M.P. (2001) Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras. Zaragoza, Acribia 799p.
26. Dupont Qualicon (2011) BAX® System PCR for detecting *Escherichia coli* O157:H7. Disponible en: [http://www2.dupont.com/Qualicon/en\\_US/products/BAX\\_System/bax\\_ecolimp.html](http://www2.dupont.com/Qualicon/en_US/products/BAX_System/bax_ecolimp.html). Fecha de consulta: 25/11/2011.
27. Elder, R.O., Keen, J.E., Siragusa, G.R., Barkocy-Gallagher, G.A., Koohmaraie, M., Laegreid, W. (2000) Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97(7): 2999-3003.
28. *Escherichia coli* O157:H7 (2010). Disponible: [http://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia\\_coli\\_O157:H7](http://es.wikipedia.org/wiki/Escherichia_coli_O157:H7). Fecha de consulta: 27 de octubre 2010.
29. Evrendilek, G.A., Zhang, H. (2003) Effects of pH, Temperature, and pre-pulsed electric field treatment on pulsed electric field and heat inactivation of *Escherichia coli* O157:H7. Journal of Food Protection 66:775-779.
30. FAO/OMS (2003) Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias. Comité del CODEX sobre higiene de los alimentos. Perfil de Riesgos para *E. coli* enterohemorrágica, incluyendo la identificación de los productos de interés, incluso los bretones, carne bovina molida y puerco; Orlando, EE. UU., del 27 de enero al 1 de febrero de 2003. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/codex/ccfh35/fh0305ds.pdf>. Fecha de consulta: 16/03/2010.
31. FAO/OMS (2005) Conferencia Regional FAO/OMS sobre Inocuidad de los Alimentos para las Américas y el Caribe. San José, Costa Rica, 6-9 de diciembre de 2005, Garantizar la inocuidad de los alimentos. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/meeting/010/af296s.pdf>. Fecha de consulta: 21/11/2010.
32. Fernández Fuentes, F. (2006) Evaluación de la inocuidad alimentaria en el primer eslabón de la cadena de producción de carne en el Uruguay. Tesis de Maestría en Salud Animal, Montevideo Uruguay, Facultad de Veterinaria, Universidad de la República 94 p.

33. Friedrich, A.W., Borell, J., Bielaszewska, M., Fruth, A., Tschäpe, H., Karch, H. (2003) Shiga toxin 1c-producing *Escherichia coli* strains: phenotypic and genetic characterization and association with human disease. *Journal of Clinical Microbiology* 41(6): 2448-2453.
34. Gadea, P., Varela, G., Balseiro, V., González, S., Mota, M., Gonzalez, G., Pardo, L., Cattaneo, M., Coerdeira, N., Schelotto, F. (2009) Detección y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga a partir de casos clínicos, de alimentos y de animales en Uruguay. *Carnes & Alimentos* 32(10): 34-48.
35. Gadea, P., Varela, G., Bernadá, M., Sirok, A., Mota, M., Sabelli, R., Grotiuz, G., Schelotto, F., Chinen, I., Chillemi, G., Rivas, M. (2004) Primer aislamiento en Uruguay de *Escherichia coli* productora de toxina Shiga del serotipo O157:H7 en una niña con síndrome urémico hemolítico. *Revista Médica del Uruguay* 20:79-81.
36. Galli, L., Leotta, G. A., Gugliada, M. J., Rivas, M. (2008) Análisis in silico de la capacidad de dos técnicas de PCR para la detección del gen stx. *Revista Argentina de Microbiología* 40: 9-12.
37. Gil, A., Verdier, M., Alves, J., Pigurina, G. (2004) Estimación de límites superiores de riesgo para *Escherichia Coli* O157:H7 en las carnes rojas del Uruguay. *Jornadas Uruguayas de Buiatría (32°.) Paysandú, Uruguay* p. 181.
38. Gil, A., (2006). Evaluación de la seguridad alimentaria en el primer eslabón de la cadena de producción de carne en el Uruguay. Disponible en: <http://www.bienestaranimal.org.uy/files/p4.pdf>. Fecha de consulta: 02/04/2011.
39. Griffin, P.M., Tauxe, R.V. (1991) The epidemiology of infections caused by *Escherichia coli* O157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. *Epidemiologic Reviews* 13(1): 60-98.
40. Guía VETA (2001) Guía para el establecimiento de sistemas de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos (VETA) y la investigación de brotes. Buenos Aires, Argentina, OPS/OMS/INPPAZ. Disponible en: <http://www.scribd.com/doc/53150962/Guia-Veta>. Fecha de consulta: 20/03/2010.
41. Hammer, W.C.K. (1999) Situación actual del comercio alimentario, incluidos los problemas relacionados con la calidad e inocuidad de los alimentos. Conferencia sobre Comercio Internacional de Alimentos a Partir del Año 2000: Decisiones basadas en criterios científicos, armonización, equivalencia y reconocimiento mutuo. Melbourne, Australia, 11-15 de octubre de 1999. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/meeting/X2636S.htm> Fecha de consulta: 27/10/2010.

42. Instituto Nacional de Carnes (INAC) (2011a), Empresas exportadoras del sector cárnico. Disponible en: [http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/421/1/lista\\_de\\_frigorificos.pdf](http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/421/1/lista_de_frigorificos.pdf). Fecha de consulta: 23/09/2011.
43. Instituto Nacional de Carnes (INAC) (2011b), Decreto 215/06. Disponible en: [http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/2014/1/decreto\\_215-06\\_de\\_3.7.06.pdf](http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/2014/1/decreto_215-06_de_3.7.06.pdf). Fecha de consulta: 05/06/2011.
44. Instituto Nacional Investigación Agropecuaria (INIA) (2010). Programa nacional de investigación, producción de carne y lana. Disponible en: <http://www.inia.org.uy/online/site/31583811.php>. Fecha de consulta 02/3/2011.
45. Instituto Robert Koch (2011) EHEC/HUS O104:H4 The outbreak is considered to be over. Disponible en: [http://www.rki.de/EN/Home/homepage\\_\\_node.html](http://www.rki.de/EN/Home/homepage__node.html). Fecha de consulta: 15/09/2011.
46. International Comisión on Microbiological Specifications for Foods, (ICMSF) (2002) Microorganismos de los Alimentos 7 Análisis microbiológico en gestión de la seguridad alimentaria. 2a. ed, Zaragoza. Acribia 367 p.
47. International Comisión on Microbiological Specifications for Foods. (ICMSF) (1998) Microorganismos de los alimentos 6, Ecología microbiana de los productos alimentarios, Zaragoza, Acribia 593 p.
48. Jay, J.M, (2002). Microbiología moderna de los alimentos 4<sup>a</sup> ed. Zaragoza, Acribia 615p.
49. Johnston, T. (2009) Un estudio indica corrales de engorde como fuente de *E. coli*. Disponible en: <http://www.carnetec.com/MembersOnly/webNews/details.aspx?item=14325>. Fecha de consulta: 12/10/2010.
50. Karmali, M.A. (1989) Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Clinical Microbiology Reviews 2(1): 15-38.
51. Karmali, M.A., Mascarenhas, M., Shen, S., Ziebell, K., Johnson, S., Reid-Smith, R., Isaac-Renton, J., Clark, C., Rahn, K., Kaper, J.B. (2003) Association of genomic Oisland 122 of *Escherichia coli* EDL933 with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* seropathotypes that are linked to epidemic and / or serious disease. Journal Clinical Microbiology 41: 4930-4940.
52. Knutton, S., Lloy, R., McNeish, A. (1987) Adhesion of enteropathogenic *Escherichia coli* to human intestinal enterocytes and cultured human intestinal mucosa. Infection and Immunity 55(1): 69-77.
53. Konowalchuk, J., Speirs, J., Stavric, S. (1977) Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infection and Immunity 18(3):775-779.

54. LeJeune, J., Besser, T.E., Hancock, D.D. (2001) Cattle water troughs as reseviors of *Escherichia coli* O157. *Applied and Environmental Microbiology* 67(7): 3053-3057.
55. Leotta, G.A., Chinen, I., Epszteyn, S., Miliwebsky, E., Melamed, I.C., Motter, M., Ferrer, M., Marey, E., Rivas, M. (2005) Validación de una técnica de PCR múltiple para la detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Revista Argentina de Microbiología* 37(1): 1-10.
56. Lewys, S. J., Velásquez, A., Cuppet, S.L., Mc Kee, S.R. (2002) Effect of electron beam irradiation on poultry meat safety and quality. *Poultry Science* 81(6): 896-903.
57. López, D. (2011) Búsqueda de microorganismos indicadores de vida útil, higiene, alterante y patógenos en carne de pollo comercializada en Montevideo. Tesis de grado, Facultad de Veterinaria, Montevideo Uruguay 48p.
58. Lound, L., Tanaro, J.D. (2007) Síndrome Urémico Hemolítico. Disponible en: <http://www.intra.fb.uner.edu.ar/síndrome.pdf>. Fecha de consulta 10/08/2010.
59. Maddock, R. (2009). Tecnologías de procesamiento, Enfoque profundo en las intervenciones para *E. coli*. Disponible en: <http://carnetec.com/MembersOnly/technology/details.aspx?item=10595&pf=true>. Fecha de consulta 28/12/2009.
60. Masana, M.O., Palladino, P.M., Carbonari, C., Leotta, G.A., Del Castillo, L.L., D'Astek, B.A., Miliwebsky, E., Vilacoba, E., Galli, L., Irino, K., Rivas, M. (2009). Tipificación y relación clonal de cepas de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga no-O157 en plantas frigoríficas en Argentina. Poster congreso COLMIC 2009, Punta del este, Uruguay. Disponible en: [http://colmic2009.congresoselis.info/programa/programaExtendido.php?sala\\_=4&dia\\_=2](http://colmic2009.congresoselis.info/programa/programaExtendido.php?sala_=4&dia_=2). Fecha de consulta: 10/03/2010.
61. Mead, P. M., Griffin, P. S., (1998) *Escherichia coli* O157:H7. *The Lancet* 352:1207-1212.
62. Mead, P.S., Slutsker, L., Dietz, V., McCaig, L.F., Bresee, J.S., Shapiro, C., Griffin, P.M., Tauxe, R.V. (1999) Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* 5(5):607-625.
63. Mercado, E. (2006) Control de *Escherichia coli* enterohemorrágico (EHEC) en el ganado bovino. *Medicina (Buenos Aires)* 66(Supl. III): 33-36.
64. Michanie, S. (2003) *Escherichia coli* O157:H7, la bacteria que disparo el HACCP en la industria de la carne. *Revista de la unión de la industria cárnica argentina* 17(4):40-42. Disponible en: [http://www.bpm-haccp.com.ar/index\\_archivos/pdf/Escherichia-coli-O157-H7.pdf](http://www.bpm-haccp.com.ar/index_archivos/pdf/Escherichia-coli-O157-H7.pdf). Fecha de consulta: 25/08/2011.

65. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) (2007), Circular 4/2007 Programa de control de *Escherichia coli* nuevas reglamentaciones de la FSIS. Departamento técnico MGAP, Montevideo Uruguay 1 p.
66. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) (2008), Circular 3/2008. Loteo de la producción destinada a USA – *E. coli* O157:H7. Departamento técnico MGAP, Montevideo Uruguay 1 p.
67. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP) (2008), Circular 6/2008, Programa de Control de *Escherichia coli* O157:H7. Departamento técnico MGAP. Montevideo Uruguay 1 p.
68. Ministerio de Salud Pública (MSP), Uruguay. Listado denuncia obligatoria. Disponible en: [http://www.msp.gub.uy/ucepidemiologia\\_337\\_1.html](http://www.msp.gub.uy/ucepidemiologia_337_1.html). Fecha de consulta: 20/09/2011.
69. Ministerio de Salud de la Nación, República Argentina (2011) Brote de SUH y diarrea con sangre por *Escherichia coli* O157:H7 productor de toxina Shiga (STEC) O104:H4 en Europa. Disponible en: [http://msal.gov.ar/htm/Site/pdf/epidemiologia/Alerta\\_E.\\_coli\\_O104\\_H4%20VF.pdf](http://msal.gov.ar/htm/Site/pdf/epidemiologia/Alerta_E._coli_O104_H4%20VF.pdf). Fecha de consulta 26/08/2011.
70. Narváez Bravo, C., Carruyo, G., Moreno, M., Rodas, A., Hoet, A., Wittum, T. (2007) Aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 en muestras de heces de ganado bovino doble propósito del municipio Miranda, Estado Zulia, Venezuela. Revista Científica (Maracaibo) 17(3): 239-245.
71. Nataro, J.P., Kaper, J.B. (1998) Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clinical Microbiological Reviews 11(1):142-201.
72. OPS, INEI – ANLIS (2011) Manual de Procedimientos “Detección de STEC O157 y no-O157 en alimentos por SIM y PCR”. Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <http://www.anlis.gov.ar/brote-de-stec/EscherichiaAlimentos.pdf>. Fecha de consulta: 16/09/2011.
73. Oquendo, M (2006) Incidencia de *Escherichia coli* serotipo O157:H7 en carne proveniente de ganado bovino de mataderos de Puerto Rico. Tesis de grado, Recinto Universitario de Mayaguez, Universidad de Puerto Rico 76 p.
74. Oswald, E., Schmidt, H., Morabito, S., Karch, H., Marchés, O., Caprioli, A. (2000) Typing of intimin genes in human and animal enterohemorrhagic and enteropathogenic *Escherichia coli*: characterization of a new intimin variant. Infection and Immunity 68(1): 64-71.
75. Padhye, N. V., Doyle, M.P. (1991) Production and characterization of a monoclonal antibody specific for enterohemorrhagic *Escherichia coli* of serotypes O157:H7 and O26:H11. Journal of Clinical Microbiology 29(1): 99-103.

76. Paton, A., Morona, R., Paton, J. (2000) A new biological agent for treatment of Shiga toxigenic *Escherichia coli* infections and dysentery in humans. *Nature Medicine* 6:265-270.
77. Paton, A.W., Woodrow, M.C., Doyle, R.M. (1999) Molecular characterization of a Shiga toxigenic *Escherichia coli* O113:H21 strain lacking eae responsible for a cluster of cases of hemolytic-uremic syndrome. *Journal Clinical Microbiological* 37(10):3357-3361.
78. Paton, J.C., Paton, A.W. (1998) Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection. *Clinical Microbiological Reviews* 11:450-479.
79. Paytton-Prueett, W., Biela, T., Lattuada, C.P., Mrozinski, P.M., Barbour, M.W., Flowers, R.S., Osborne, W., Reagan, J.O., Theno, D., Cook, V., Mcnamara, A., Rose, B. (2002) Incidence of *Escherichia coli* O157:H7 in frozen beef patties produced over an 8-hour shift. *Journal of Food Protection* 65(9):1363-1370.
80. Pearce, M.C., Evans, J., McKendrick, J., Smith, A.W., Knight, H.I., Mellor, D.J., Woolhouse, E.J., Gunn, G.J., Low, J.C. (2006) Prevalence and virulence factors of *Escherichia coli* serogroups O26, O103, O111 and O145 shed by cattle in Scotland. *Applied of Environmental Microbiology* 72:653-659.
81. Pistone, V., Nuñez, P., Boccoli, J., Silberstein, C., Zotta, E., Goldstein, J., Ibarra, C., (2006) Papel de la toxina Shiga en el Síndrome Urémico Hemolítico. *Medicina (Buenos Aires)*, 66(Supl III): 11-15.
82. Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A. (2004) *Monografía Microbiología*. Madrid McGraw-Hill, Interamericana 1240 p.
83. Pulsenet, Disponible en:  
[http://www.cdc.gov/pulsenet/pathogenes\\_pages/escherichiacoli\\_O157H7.htm](http://www.cdc.gov/pulsenet/pathogenes_pages/escherichiacoli_O157H7.htm).  
 Fecha de consulta: 08/09/2011.
84. Ratnam, S., March, S., Ahmed, R., Bezanson, G.S., Kasatiya, S. (1988) Characterization of *Escherichia coli* serotype O157:H7. *Journal of Clinical Microbiology* 26(10): 2006-2011.
85. Rey, A. M., Silvestre, A. A. (2005) *Comer sin riesgos II: las enfermedades transmitidas por alimentos*. Buenos Aires, Hemisferio Sur 347 p.
86. Rice, E.W., Clark, R.M., Johnson, C.H. (1999) Chlorine inactivation of *Escherichia coli* O157:H7. *Emerging Infectious Diseases* 5: 461-463.
87. Rivas, M., Miliewbsky, E., Chinen, I., Deza, N., Leotta, G. (2006) Epidemiología del Síndrome Úremico Hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión. *Medicina (Buenos Aires)* 66(Supl.III): 27-32.

88. Riley, L.W., Remis, R.S., Helgerson S.D. (1983) Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New England Journal of Medicine* 308:681-685.
89. Rivero, M., Paddola, N., Etchevarria, A., Parma, A. (2004) *Escherichia coli* enterohemorrágica y síndrome urémico hemolítico en Argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 64: 352-356.
90. Rovira, P. (2009) Inocuidad de las carnes, tema relevante para INIA. *Revista INIA N° 9*, 13 p.
91. Rupnow, J. (2011). El reto de la inocuidad de los alimentos. Simposio sobre inocuidad de los alimentos, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), 15 de febrero 2011, Edificio Mercosur, Montevideo, Uruguay. Disponible en: [http://www.iica.org.uy/index.php?option=com\\_content&view=article&id=916](http://www.iica.org.uy/index.php?option=com_content&view=article&id=916). Fecha de consulta: 04/03/2011.
92. Sánchez, N., (1997) *Escherichia coli* O157:H7. Aspectos generales. Ministerio de Salud Pública La Habana, Cuba. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/uats/rtv\\_files/rtv0997.htm#Tratamiento y prevención](http://bvs.sld.cu/uats/rtv_files/rtv0997.htm#Tratamiento_y_prevencci3n). Fecha de consulta: 03/11/2011.
93. Sanchez, Marcos. (2011). Inocuidad en productos frescos de res y cerdo. Disponible en: [http://www.iica.int/Esp/regiones/sur/argentina/Documents/2011/SAIA/presentaciones\\_anal\\_riesg/Sanchez\\_Inocuidad\\_Productos\\_Frescos\\_de\\_Res\\_y\\_Cerdo.pdf](http://www.iica.int/Esp/regiones/sur/argentina/Documents/2011/SAIA/presentaciones_anal_riesg/Sanchez_Inocuidad_Productos_Frescos_de_Res_y_Cerdo.pdf). Fecha de consulta: 20/09/2011.
94. Sargeant, J.M., Sanderson, M., Smith, R., Griffin, D. (2004) Associations between management, climate and *Escherichia coli* O157:H7 in the feces of feed lot cattle in the Midwestern USA. *Preventive Veterinary Medicine* 66:175-206.
95. Schelotto, F., Amorin, B., Varela, G., Pirez, C., Betancor, L. (1996). Síndrome Urémico Hemolítico en Uruguay y su relación con *E. coli* VTEC. 1er. Simposio de Infectología Pediátrica. Montevideo, Uruguay. SLIPE. p. 123.
96. Schelotto, F., Gadea, P. (2002) Enfermedades transmitidas por los alimentos en Uruguay. Ministerio de Salud Pública. Montevideo, Instituto de Higiene, OPS 118 p.
97. Schroeder, C., Zhao, C., DebRoy, C., Zhao, S., White, D., Wagner, D., McDermott, P., Walker, R., Meng, J. (2002) Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* O157 Isolated from humans, cattle, Swine and Food. *Applied and Environmental Microbiology* 68:576-581.
98. Sheng, H., Knecht, H.J., Kudva, I.T., Hovde, C.J. (2006) Application of bacteriophages to control intestinal *Escherichia coli* O157:H7 levels in ruminants. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 5359-5366.

99. Shere, J.A., Bartlett, K.J., Kaspar, C.W. (1998) Longitudinal study of *Escherichia coli* O157:H7 dissemination on four dairy farms in Wisconsin. *Journal of Applied and Environmental Microbiology* 64(4): 1390-1399.
100. Stanchi, N.O, (2007) *Microbiología Veterinaria*. Buenos Aires, Intermédica 571p.
101. Sulluchuco, A. (2011) Tyson Fresh Meats retira del mercado 290 mil kilos de carne molida por *E. coli*. Disponible en: <http://www.carnetec.com/MembersOnly/webNews/details.aspx?item=27015>. Fecha de consulta: 04/10/2011.
102. Tarr, P.I. (1995) *Escherichia coli* O157:H7: clinical, diagnostic, and epidemiologic aspects of human infection. *Clinical Infectious Diseases* 20(1):1-8.
103. Tarr, P.I., Hickman, R.O. (1987) Hemolytic uremic syndrome epidemiology: A population-based study in King County, Washington, 1971 to 1980. *Pediatrics* 80:41-45.
104. Thippareddi, H. (2011). La inocuidad de los alimentos y la industria cárnica. Simposio sobre inocuidad de los alimentos, Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), 15 de febrero 2011, Edificio Mercosur, Montevideo, Uruguay. Disponible en: [http://www.iica.org.uy/index.php?option=com\\_content&view=article&id=916](http://www.iica.org.uy/index.php?option=com_content&view=article&id=916). Fecha de consulta: 04/03/2011.
105. Thran B.H., Hussein H.S., Hall M.R., Khaiboullina S.F. (2001) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef heifers grazing an irrigated pasture. *Journal of Food Protection* 64(10): 1613-1616.
106. USDA-FSIS (1996) Notice of policy change: achieving the zero tolerance performance standard for beef carcasses by knife trimming and vacuuming with hot water or steam; use of acceptable carcass interventions for reducing carcass contamination without prior agency approval. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service. *Federal Register* 61: 15024-15027. Disponible en: <http://www.federalregister.gov/articles/1996/04/04/96-7938/notice-of-policy-change-achieving-the-zero-tolerance-performance-standard-for-beef-carcasses-by>. Fecha de consulta: 30/10/2011.
107. VanOverbeke, D.L. (2007) *Manual de seguridad y calidad de la carne de vacuno*. Zaragoza, Acribia 219 p.
108. Varela, G., Gadea, P., González, S., Mota, M.I., González, G., Cattáneo, M., Bernadá, M., Sabelli, R., Sirok, A., Pardo, L., Schelotto, F. (2005) *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (stec) en enfermedades transmitidas por alimentos. *Carnes & Alimentos* 17(6):14-19.

109. Varela, G., Chinen, I., Gadea, P., Miliwebsky, E., Mota, M.I., González, S., González, G., Gugliada, M.J., Carbonari, C.C., Algorta, G., Bernadá, M., Sabelli, R., Pardo, L., Rivas, M., Schelotto, F. (2008) Detección y caracterización de *Escherichia Coli* productor de toxina Shiga a partir de casos clínicos y de alimentos en Uruguay. *Revista Argentina de Microbiología* 40:93-100.
110. Vazquez, J., Cabrá, A., (2001) La inocuidad alimentaria realidad y reto mundial. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/003/y0600m/y0600m02.htm>. Fecha de consulta: 06/10/2010.
111. Wells, J.G., Davis, B.R., Wachsmuth, I.K., Riley, L.W., Remis, R.S., Sokolow, R., Morris, G.K. (1983) Laboratory investigation of hemorrhagic colitis outbreaks associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *Journal of Clinical Microbiology* 18(3):512-520.
112. Wells, J.G., Shipman, L.D., Greene, K.D., Sowers, E.G., Green, J.H., Cameron, D.N., Downes, F.P., Martin, M.L., Griffin, P.M., Ostroff, S.M., Potter, M.E., Tauxe, R.V, Wachsmuth, I.K. (1991) Isolation of *Escherichia coli* serotype O157:H7 and other Shiga-like toxin-producing *E. coli* from dairy cattle. *Journal of Clinical Microbiology* 29(5): 985-989.
113. Wood, M. (2009) Nuevas vacunas podrían ayudar a impedir la bacteria *E. coli* O157:H7) United States Department of Agriculture (USDA). Disponible en: [www.ars.usda.gov/is/espanol/pr/2009/091217.es.htm](http://www.ars.usda.gov/is/espanol/pr/2009/091217.es.htm). Fecha de consulta: 20/03/2010.
114. World Health Organization (WHO). (1997) Prevention and control of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections. Report of a WHO Consultation, Geneva, Switzerland. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2305710/>. Fecha de consulta: 17/12/2010.
115. Zhang, X., McDaniel, A., Wolf, L., Keusch, G., Waldor, M., Acheson, D. (2000) Quinolone antibiotics induce Shiga toxin-encoding bacteriophages, toxin production, and death in mice. *The Journal of Infectious Diseases*. 181:664-670.
116. Zhao, T., Doyle, M.P., Harmon, B.G., Brown, C.A., Mueller, P.O., Parks, A.H. (1998) Reduction of carriage of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in cattle by inoculation with probiotic bacteria. *Journal of Clinical Microbiology* 36(3):641-647.

## ANEXOS

**Anexo A:**



**DIRECCION GENERAL DE SERVICIOS GANADEROS  
DIVISION INDUSTRIA ANIMAL  
DEPARTAMENTO TECNICO**

**OBJETIVO:** Controlar la presencia de *Escherichia Coli* 0157:H7 en carne bovina.

**ALCANCE:** Carne bovina cruda en recortes (trimming) y/o carne Sin hueso que puedan destinarse a preparar carne picada, producida en establecimientos habilitados para exportar a los Estados Unidos de América.

**RESPONSABLE:** División Industria Animal (DIA), a través del Departamento Establecimientos de Faena (DEF), Departamento Técnico (DT) y Departamento de Control del Comercio Internacional (DCI).

**FECHA DE COMIENZO DEL PROGRAMA:**

1º de enero de 2008. Se aplica a todas las producciones que se realicen en establecimientos habilitados con destino al mercado de Estados Unidos de América a partir de esta fecha.

**DOCUMENTOS DE REFERENCIA:**

1. Decreto 369/983, Reglamento Oficial de Inspección Veterinaria.
2. Circular 9/2002, de la DIA, sobre *Escherichia coli* O157:H7
3. Comunicados del FSIS (Notices).

**DESCRIPCIÓN:**

El programa incluye las siguientes actividades:

1. Plan de muestreo de rutina: privado y oficial.
2. Gestión de resultados.
3. Plan de muestreo de seguimiento: privado y oficial.
4. Capacitación (personal oficial y privado).

## 1. Plan de muestreo de rutina: privado y oficial.

### 1.1. Consideraciones generales

El establecimiento habilitado define el lote y lo comunica por escrito a la Inspección Veterinaria Oficial (IVO), la primera vez y cada vez que haya cambio. La IVO archiva todas estas notas del establecimiento.

El establecimiento habilitado presenta por escrito a la IVO su sistema de trazabilidad del lote de carne, en todos los productos que se elaboran para el mercado de Estados Unidos de América. La IVO también archiva estos documentos.

El DT diseña el plan de muestreo oficial, tanto el de rutina como el de seguimiento, y lo eleva para su aprobación a la DIA. El DT evalúa el plan periódicamente y realiza los cambios que la evolución científica indique. La DIA dispone que todos los establecimientos implementen un plan de muestreo de autocontrol. El mismo es conocido y controlado por la IVO y su cumplimiento es supervisado por el DEF. La DIA comprueba que el mismo se mantenga vigente.

Cada vez que se realiza un muestreo, tanto privado como oficial, se retiene todo el lote.

La IVO conoce exactamente la ubicación del lote retenido cualquiera sea el lugar donde se encuentre, a fin de poder realizar un *recall* si fuera necesario.

Cuando el laboratorio interviniente tiene los resultados analíticos de las muestras de autocontrol, los comunica por escrito o por vía electrónica a los responsables del muestreo de la empresa y a la IVO del establecimiento.

El lote retenido puede ser movilizado, previa autorización de la IVO, dentro del propio establecimiento, de un establecimiento a otro o del establecimiento a un depósito. Cuando el establecimiento solicita la autorización para mover mercadería retenida, debe dar garantías escritas a la IVO con respecto a la trazabilidad del lote o lotes a mover.

### 1.2. Frecuencia de muestreo.

#### 1.2.1. Plan de muestreo privado (autocontrol de la empresa).

1.2.1.1. Diariamente se extrae  $n=1$  (cada muestra está integrada por 60 trozos de carne) de cada lote definido.

1.2.1.2. Las muestras se analizan en el laboratorio habilitado a tal efecto por las autoridades de la Dirección General de Servicios Ganaderos (DGSG).

## 1.2.2. Plan de muestreo oficial.

1.2.2.1. Semanalmente se extrae  $n=1$  (cada muestra está integrada por 60 trozos de carne) del lote definido para el programa de muestreo oficial, en fechas establecidas por el DT.

1.2.2.2. La muestra oficial debe provenir de la carne (trimming / delantero en manta) obtenida de los animales de un lote, cuya procedencia sea de un mismo establecimiento ganadero (tropa).

1.2.2.3. Se le da preferencia de muestreo a las tropas que provienen de sistemas de engorde intensivo.

1.2.2.4. Las muestras se analizan en el laboratorio oficial del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP) o en laboratorios acreditados.

## 1.3. Número y tamaño de las muestras.

1.3.1. La muestra se extrae, en forma aséptica, en el punto de la línea de producción más cercano al empaque final del producto.

1.3.2. La muestra está formada por 60 (sesenta) trozos de carne que se toman distribuidos a lo largo de todo el tiempo de producción del lote, de forma de maximizar la representatividad del proceso.

1.3.3. Cada uno de los 60 (sesenta) trozos de carne, que forman una muestra, consiste en una feta de carne tomada de la superficie de la pieza de carne, de aproximadamente 10 cm x 5 cm x 3 mm.

1.3.4. El proceso de toma de muestras, distribuido a lo largo del tiempo de producción, se divide en cinco instancias. En cada una de ellas se toman 12 (doce) trozos y se colocan en una bolsa estéril, la cual se identifica.

1.3.5. Al final de la producción, se tienen 5 (cinco) bolsas conteniendo 12 (doce) trozos cada una. El conjunto de las 5 (cinco) bolsas constituye la muestra del lote, la cual no debe pesar menos de 908 gramos, en total.

1.3.6. La temperatura de la muestra no puede superar los + 4° C y se registra en el formulario de muestreo, que acompaña a la muestra al laboratorio.

1.4. Si la muestra no se analiza en el mismo día de la extracción, se debe refrigerar. Si no se analiza dentro de las 24 horas de tomada, se debe congelar.

## 2. Gestión de resultados

Acciones a tomar ante un resultado positivo en el muestreo de la empresa y/u oficial.

- 2.1. La IVO está siempre en conocimiento de los resultados del muestreo de la empresa. Frente a un resultado positivo, lo comunica a sus superiores jerárquicos, en forma escrita.
- 2.2. Ante un resultado positivo, la DIA determina la disposición final del producto retenido.
- 2.3. Si la IVO obtiene un resultado positivo confirmado de una muestra oficial, revisa el muestreo privado a fin de comprobar si el mismo lote dio resultado positivo.
- 2.4. En caso de que la IVO obtenga un resultado positivo confirmado en una muestra oficial y la empresa obtenga un resultado negativo en una muestra de autocontrol, la IVO notifica a la empresa del hallazgo y emite una nota de NO CUMPLIMIENTO. Así mismo, la IVO comunica esta situación al laboratorio oficial del MGAP.
- 2.5. La IVO verifica si la empresa ha tomado las acciones correctivas establecidas:
  - 2.5.1. Se identifica y elimina la causa de la desviación.
  - 2.5.2. El proceso vuelve a estar controlado, luego de la eliminación de la causa de la desviación.
  - 2.5.3. Se toman las medidas para prevenir la repetición del no cumplimiento
  - 2.5.4. Se evita que el producto en no cumplimiento entre al comercio.
- 2.6. La IVO verifica si la empresa ha realizado una revisión del plan HACCP, así como de los SSOP, y realiza una revisión de todos los registros.
- 2.7. La IVO se asegura de que se disponga de todo el producto que integra el lote, de acuerdo con lo que determine la DIA. El destino final del producto, que es sometido a tratamiento térmico, puede ser la alimentación humana o animal.
- 2.8. La IVO registra todo el procedimiento.

### **3. Plan de muestreo de seguimiento ante un resultado positivo oficial o de la empresa**

- 3.1. La IVO inicia de inmediato un plan de muestreo de seguimiento.
- 3.2. Mientras el establecimiento está sujeto a muestreo de seguimiento, se suspende el muestreo de rutina.
- 3.3. El plan de muestreo de seguimiento incluye la toma de 16 (dieciséis) muestras de lotes de producción consecutivos. Para la muestra oficial, el lote es siempre una tropa, mientras que para el establecimiento, el lote es siempre el que fue definido y comunicado por escrito a la IVO.
- 3.4. La IVO es la encargada de iniciar la toma de muestras tan pronto como sea posible, sin esperar a que el establecimiento complete las acciones correctivas.
- 3.5. La IVO toma como **máximo** dos muestras por día de producción.
- 3.6. La frecuencia **mínima** de muestreo es de tres muestras por semana.
- 3.7. En caso de que una muestra de seguimiento sea positiva, la DIA determina las medidas a tomar.
- 3.8. Si las medidas correctivas del establecimiento, una vez completadas, no se demuestran eficaces, la DIA puede suspender la actividad del establecimiento y tomar otras medidas, incluyendo la suspensión de la certificación.

### **4. Capacitación (personal oficial y personal privado)**

- 4.1 Se entrena a todo el personal de la IVO de establecimientos habilitados para el mercado de los Estados Unidos de América, al personal de Supervisión del DEF y al personal del DT, antes de implementar este plan de muestreo.
- 4.2 Al mismo tiempo se entrena a los responsables de aseguramiento de la inocuidad de los establecimientos habilitados para el mercado de USA.
- 4.3 Los responsables de realizar el entrenamiento son los encargados de los DT y DEF, así como el Director y el Director Adjunto de la DIA.
- 4.4 Los documentos para entrenamiento entregados a los asistentes se mantienen a disposición de las auditorías del USDA.
- 4.5 Los asistentes conservan en su lugar de trabajo todo el material de entrenamiento.

**Anexo B:**

**UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE FOOD SAFETY AND  
INSPECTION SERVICE WASHINGTON, DC**

<b>FSIS NOTICE</b>	49-11	9/9/11
--------------------	-------	--------

**DISCONTINUATION OF *E. coli* O157:H7 TESTING IN CERTAIN READY-TO-EAT (RTE) PRODUCTS**

An analysis of the data from ready-to-eat (RTE) sampling programs showed that since 1994 there has not been an *E. coli* O157:H7 positive test result in these products. This notice informs inspection program personnel (IPP) and Import Inspection Personnel that FSIS discontinued testing of domestic and imported RTE dry and semi-dry fermented sausages and fully cooked meat patties for *E. coli* O157:H7.

**NOTE:** Samples of dry/semi-dry fermented sausages and fully cooked meat patties will continue to be collected and tested for *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* under the ALLRTE, RTE001, and AIIS sampling programs.

Since 1994, FSIS has tested over 10,000 samples from RTE products (dry/semi-dry fermented sausages and fully cooked meat patties) for *E. coli* O157:H7 through the ALLRTE and RTE001 programs. During this time FSIS has not had a positive *E. coli* O157:H7 test result from these RTE products. Therefore, the Agency has determined that the effectiveness of the testing program for *E. coli* O157:H7 in dry/semi-dry fermented sausages and fully cooked meat patties for verifying process control for these products should be reassessed. Although there was a recent FSIS recall in March 2011 of a Lebanon bologna product linked to an outbreak of *E. coli* O157:H7, the contamination was likely due to problems with the establishment's lack of scientific supporting documentation for the critical limits of the process. Such problems are not normally detected by FSIS pathogen sampling programs, because samples are not collected at a frequency high enough to detect processing issues that occur intermittently and at a low frequency. These problems are most often found during Food Safety Assessments (FSAs) or during other in-depth establishment reviews.

<b>DISTRIBUTION:</b> Electronic	<b>NOTICE EXPIRES:</b> 10/1/12	<b>OPI:</b> OPPD 2
---------------------------------	--------------------------------	--------------------

Sampling resources previously utilized for the *E. coli* O157:H7 sampling program for dry/semi-dry fermented sausages and fully cooked meat patties will be diverted to increase testing for *E. coli* O157:H7 in raw products that are more likely to cause a public health risk.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "David Joseph". The signature is written in a cursive style with a prominent loop at the end.

Assistant Administrator  
Office of Policy and Program Development

**Anexo C:**



**DIRECCION GENERAL DE SERVICIOS GANADEROS  
DIVISION INDUSTRIA ANIMAL**

**CIRCULAR 9/2002**

**FECHA:** 9 de diciembre de 2002

**REFERENCIA:** Revisión de planes HACCP a la luz de la nueva evidencia científica sobre *Escherichia coli* O157:H7.

---

De acuerdo con lo establecido por las resoluciones de la División Industria Animal (DIA), de fecha 19 de noviembre de 1997 y 1º de diciembre de 1998, los establecimientos habilitados para exportar hacia los Estados Unidos de América debieron implementar un plan de Análisis de Peligros y Control de Puntos Críticos (HACCP).

Estos planes deben ser revisados con una frecuencia preestablecida y cada vez que se determine que es necesario hacerlo. En cada una de estas revisiones se deben tomar en cuenta los nuevos conocimientos científicos y tecnológicos que van surgiendo.

El 7 de octubre de 2002, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos publicó en el "Federal Register", Vol. 67, N° 194 (Rules and Regulations), páginas 62325 a 62334, un documento conteniendo nueva información sobre contaminación de productos cárnicos por *Escherichia coli* O157:H7 y planteando exigencias adicionales para la revisión de los planes HACCP tomando en consideración esta información.

Este documento establece que los establecimientos habilitados para exportar productos frescos a los Estados Unidos deberán proceder de la misma manera que las plantas de ese país, en caso de que no lo hayan hecho anteriormente.

Los planes HACCP, revisados tomando en cuenta el peligro de contaminación *Escherichia coli* O157:H7, deberán ser implementados antes del 1º marzo de 2003.

A partir de la fecha mencionada, el Servicio Oficial de Inspección Veterinaria de cada planta procederá a verificar que la empresa haya revisado sus planes HACCP tomando en cuenta el peligro de contaminación con *Escherichia coli* O157:H7.

**DR. HECTOR J. LAZANEO  
DIRECTOR**