



LABORATORIO TECNOLÓGICO DEL URUGUAY

www.latu.org.uy

Aplicación de irradiación Gamma (⁶⁰Co) para el control de STEC *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga (O26, O45, O103, O111, O121, O145 y O157:H7) en hamburguesas crudas congeladas

MUSSIO, Paula (1); MARTÍNEZ, Inés (3); SORIA, Alejandra (1, 2), SOUMASTRE, Martina (3).

(1) Gerencia de Análisis, Ensayos y Metrología, Laboratorio Tecnológico del Uruguay, LATU. (2) Comité Nacional de Irradiación y (3) Gerencia de Investigación, Desarrollo e Innovación, Laboratorio Tecnológico del Uruguay, LATU.

Introducción

Las STEC, *Escherichia coli* productoras de Toxina Shiga O157:H7 y no-O157:H7 han sido identificadas como patógenos alimentarios emergentes¹, responsables de numerosos brotes a nivel mundial^{2,3}. Muchos alimentos se han vinculado a estos brotes, principalmente las hamburguesas de carne bovina⁴, insuficientemente cocidas.

Objetivos

El objetivo principal del trabajo consistió en evaluar el comportamiento y resistencia de 7 cepas STEC (O26, O45, O103, O111, O145, O121 y O157:H7) a la irradiación gamma (⁶⁰Co).

Objetivos específicos

- 1) Determinar la dosis de irradiación necesaria para disminuir un orden logarítmico la concentración de cada una de las 7 cepas (D₁₀).
- 2) Determinar la dosis capaz de eliminar distintas cargas de STEC inoculadas en muestras de hamburguesas crudas congeladas.



Imágenes de la Unidad de Irradiación del LATU.

ETAPA 1) Determinación del D₁₀ para cada una de las 7 cepas de STEC

❖ Triplicados de 11 g de hamburguesas 100% carne vacuna previamente irradiadas con 7,7 kGy de ⁶⁰Co se inocularon con una carga aprox. de 1x10⁶ células/g de cada una de las 7 cepas STEC de forma individual.

❖ Las muestras se irradiaron con: 0; 0.44 y 0.8 kGy de ⁶⁰Co y se conservaron a -20 °C durante 24 h. Cumplido este tiempo se realizó el recuento bacteriano en TEMPO[®] AC (Aerobic Count).

❖ Se calculó el valor D₁₀ correspondiente a cada cepa a partir de las pendientes obtenidas del Gráfico 1 empleando la fórmula: D₁₀ = 1/pendiente (Tabla 1).

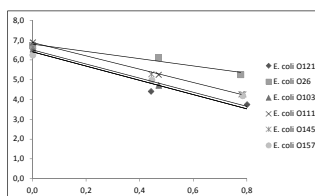


Gráfico 1. Log del recuento bacteriano en función de la dosis de irradiación (kGy) para cada cepa.

CEPA	D ₁₀
<i>E. coli</i> O26	0.55
<i>E. coli</i> O45	0.32
<i>E. coli</i> O103	0.28
<i>E. coli</i> O121	0.25
<i>E. coli</i> O111	0.30
<i>E. coli</i> O145	0.33
<i>E. coli</i> O157	0.38

Tabla 1. Valores D₁₀ correspondientes a cada cepa de STEC.

ETAPA 2) Determinación de la dosis de ⁶⁰Co capaz de eliminar distintas cargas de STEC

Muestras de 65 g de hamburguesas 100% carne vacuna previamente irradiadas con 7,7 kGy de ⁶⁰Co se inocularon con diferentes cargas de cada una de las 7 cepas de STEC. Las mismas se irradiaron con distintas dosis y posteriormente se evaluó la presencia de STEC mediante PCR en tiempo real (BaxSystem[®], Dupont). Adicionalmente se realizaron recuentos de aerobios totales (Plate Count Agar, Oxoid), STEC (Rainbow agar (Biolog) e inmunoseparación magnética de serogrupos positivos (RapidCheck[®] Magnetic Particles, Sdix) a modo de confirmación.

2.1) INÓCULO: 6 log UFC

DOSIS APLICADAS: 0; 2.2; 3.2; 3.5 y 3.7 kGy.

Dosis irradiación Aplicada (kGy)	Recuento Inóculo (células/65g)		Screening stx/eeae	Paneles	IMS/ serología
	Aerobios (PCA/TEMPO [®] AC)	STECs (RA)			
0	7.1x10 ⁵	5.1x10 ⁶	nd	Cepas +: O26 (Ct 27.4), O121 (Ct 38.2), O45 (Ct 33.0), O103 (Ct 33.0), O145 (Ct 23.0), O111 (Ct 26.5) y O157:H7 (Ct 30.8)	nd
2.2 ± 0.09	2.1 x10 ³	< 2.6 x10 ³	stx + (Ct 37.3) eae + (Ct 37.8)	Cepas +: O26 (Ct 39.4), O121 (Ct 39.6), O111 (Ct 38.7), O45 (Ct 40.5), O103 (Ct 40.2), O145 (Ct 39.8)	IMS O26 + IMS O111 +
3.2 ± 0.14	< 2.6 x10 ²	< 2.6 x10 ²	stx + (Ct 34.5) eae + Ct 36.6)	Cepas +: O26 (Ct 41.5), O121 (Ct 41.1), O45 (Ct 40.8), O103 (Ct 39.6), O145 (Ct 40.5) Cepas -: O111 y O157:H7	IMS O103 -
0	1.2x10 ⁶	1.1x10 ⁶	+	nd	nd
3.5 ± 0.17	3.9x10 ³	< 2.6 x10 ²	stx + (Ct 36.1) eae + Ct 37.0)	Cepas +: O26 (Ct 40.6), O121 (Ct 39.6), O45 (Ct 39.5), O103 (Ct 38.9), O145 (Ct 38.7) Cepas -: O111 y O157:H7	IMS O145 -
3.7 ± 0.16	2.1x10 ³	< 2.6 x10 ²	stx + (Ct 37.7) eae + Ct 37.4)	Cepas +: O26 (Ct 40.8), O121 (Ct 40.7), O45 (Ct 40.0), O103 (Ct 39.9), O145 (Ct 39.0) Cepas -: O111 y O157:H7	IMS O145 -

Tabla 1. Resultados de los recuentos bacterianos, detección de genes de virulencia (stx/eeae) y confirmación de serogrupos positivos en las muestras inoculadas con una carga de 1x10⁶ células/g de STEC e irradiadas con 2.2; 3.2; 3.5 y 3.7 kGy de ⁶⁰Co.

2.2) INÓCULOS: 3 log, 4 log y 5 log UFC

DOSIS APLICADAS: 0; 4.1; 4.2 y 4.3 kGy.

Dosis irradiación Aplicada (kGy)	Inóculo inicial estimado en 65 g	Inóculo Real en 65 g	Recuento (células/65g)		Screening stx/eeae	Paneles
			Aerobios (PCA/TEMPO [®] AC)	STECs (RA)		
0	1 x10 ³	3.9x10 ³	3.9x10 ³	1.5x10 ³	nd	Cepas +: O26 (Ct 32.6), O45 (Ct 25.6), O103 (Ct 23.9), O111 (Ct 28.2), O121 (Ct 33.0), O145 (Ct 22.8) y O157:H7
4.10 ± 0.17	1 x10 ³	3.9x10 ²	< 2.6 x10 ²	< 2.6 x10 ²	-	nd
4.30 ± 0.18	1 x10 ⁴	3.9x10 ²	< 2.6 x10 ²	< 2.6 x10 ²	-	nd
4.20 ± 0.17	1 x10 ⁵	3.9x10 ⁵	< 2.6 x10 ²	< 2.6 x10 ²	stx + (Ct 37.5) eae + (Ct 38.9)	Réplica A) Cepas +: O45 (Ct 40.8) y O145 (Ct 41.4). Cepas -: O26, O103, O111, O121 y O157:H7 Réplica B) Cepas +: O121 (Ct 35.7) y O145 (Ct 40.2). Cepas -: O26, O45, O103, O111 y O157:H7

Tabla 2. Resultados de los recuentos bacterianos, detección de genes de virulencia (stx/eeae) y confirmación de serogrupos positivos en las muestras inoculadas con cargas de 1x10³, 1x10⁴ y 1x10⁵ UFC de STEC e irradiadas con 4.0 kGy de ⁶⁰Co.

Conclusiones

Se demostró la aplicabilidad de la técnica de irradiación con (⁶⁰Co) como estrategia de mitigación de STECs en muestras de hamburguesas crudas congeladas.

La dosis de irradiación promedio que permitió disminuir un orden de magnitud (D₁₀) las cargas de STEC inoculadas en muestras de hamburguesas 100% carne vacuna previamente irradiadas, fue de 0.34 kGy.

Dosis superiores a 2.2 kGy disminuyeron los recuentos bacterianos, mientras que dosis superiores a 3.0 kGy comprometieron la viabilidad de las cepas estudiadas.

La dosis de ⁶⁰Co que eliminó de forma efectiva las 7 cepas de STEC inoculadas en 65 g de hamburguesas con una carga de 1x10³ y 1x10⁴ UFC fue 4.0 kGy.

Referencias

- (1) Brooks, et al., 2005, pp. 1422-9.
- (2) D'Aoust, et al., 2007, pp. 93-100.
- (3) Varela, et al., 2008, pp. 93-100.
- (4) Masana, et al., 2011, pp. 208.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación (ANII), al Instituto Nacional de Carnes (INAC) y al Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU) por la financiación del proyecto de investigación gracias al cual se desarrolló este trabajo de investigación.