

Introducción

Las cepas de *Escherichia coli*, capaces de generar toxina Shiga (STEC), son potenciales patógenos alimentarios, provocando desde diarreas hasta enfermedades renales muy graves (SUH), e incluso la muerte.

Si bien la *E. coli* O157:H7 es la de mayor impacto, otras STEC han sido responsables de varios brotes mundiales. Por esto, crece el interés por su control y mitigación.

Los alimentos de mayor riesgo de infección por STEC son la carne vacuna, las verduras y frutas y los productos lácteos elaborados con leche cruda. En Uruguay, la hamburguesa es de gran consumo, particularmente asociado a niños.

La tecnología de alta presión hidrostática (APH), proceso no térmico innovador, tiene el potencial de lograr alimentos microbiológicamente seguros extendiendo su vida útil.

ETAPA 1 – Disminución de la carga de STEC con diferentes tratamientos de altas presiones

❖ Se inocularon muestras de hamburguesas 100% carne vacuna previamente irradiadas para eliminar su microbiota nativa, con cepas de STEC de referencia, a una carga de 6 log/g y se las sometió a tratamiento con altas presiones utilizando el equipo modelo S-IL-100-250-09-W HP FOOD PROCESSOR, STANSTED FLUID POWER (Essex, UK), a 350, 450 y 600 MPa durante 5 minutos.

❖ Se realizó el recuento de las bacterias viables presentes en las muestras, tanto de las tratadas como de las sin tratar, mediante siembra incorporada en Plate Count Agar (PCA, Oxoid, UK).

❖ Los tratamientos con APH lograron disminuir la carga de las siete cepas inoculadas. A 600 MPa, se logró reducir 5 órdenes. Se observó que la sensibilidad varió en función del serogrupo inoculado, siendo la *E. coli* O103 la más sensible y la *E. coli* O157:H7 una de las más resistentes.

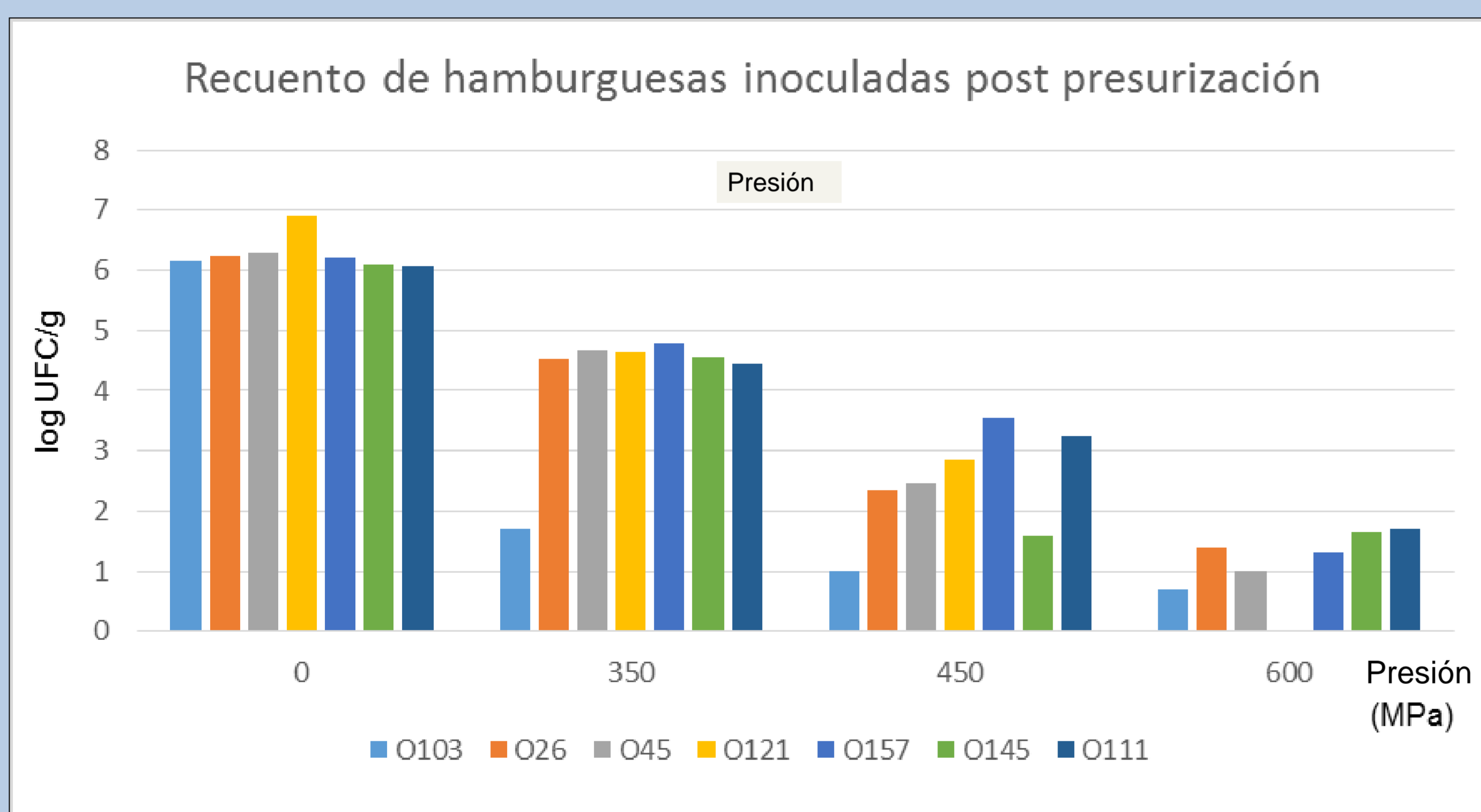


Figura 1. Recuentos bacterianos luego de la presurización de las muestras de hamburguesas inoculadas con las distintas cepas STEC con distintas dosis.

Objetivos

Evaluar:

- El comportamiento y resistencia de cepas de *E. coli* shigatoxigénicas a distintos tratamientos con altas presiones.
- Los cambios fisicoquímicos y microbiológicos en las muestras tratadas a distintas presiones.

Objetivos específicos:

- 1) Determinar la disminución de la concentración inoculada en la hamburguesa, de siete cepas de STECs (O26, O45, O103, O111, O121, O145 y O157) al aplicar tres presiones: 350, 450 y 600 MPa;
- 2) Determinar las presiones capaces de eliminar distintas cargas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en muestras de hamburguesas congeladas crudas;
- 3) Evaluar parámetros fisicoquímicos y microbiológicos (flora nativa) de las muestras antes y después de ser sometidas a distintas presiones.



ETAPA 2 – Determinar dosis de altas presiones capaz de eliminar distintas cargas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en muestras de hamburguesas

❖ 27 muestras de 11 g de hamburguesas congeladas 100% carne vacuna previamente irradiadas, se inocularon con distintas cargas de *E. coli* O157:H7 - 9 con 2 log/g, 9 con 3 log/g y 9 con 4 log/g. 9 muestras fueron presurizadas a 450 y otras 9 a 600 MPa, todas durante 5 minutos.

❖ Se realizó el recuento de aerobios totales de todas las muestras por siembra incorporada en Plate Count Agar (PCA, Oxoid, UK) y búsqueda de STECs mediante PCR a tiempo real, utilizando el kit "BAX® System Real-Time PCR Assays - STEC Screening (*stx* and *eae*)" (Dupont, USA). Para la detección de genes *stx* y *eae* se realizó un wet pool (WP) de las lisis correspondientes al mismo nivel de inóculo. En los WP positivos a ambos genes, se sembró el caldo en CHROMagar™ O157 (Chromagar, FR) para confirmar células viables.

❖ Los recuentos de células viables descendieron proporcionalmente a los niveles de presión aplicados, confirmando los resultados de la etapa 1. Sin embargo, la detección de genes de virulencia *stx* y *eae*, solo fue negativa en las muestras conteniendo menor inóculo y tratamientos a mayor presión.

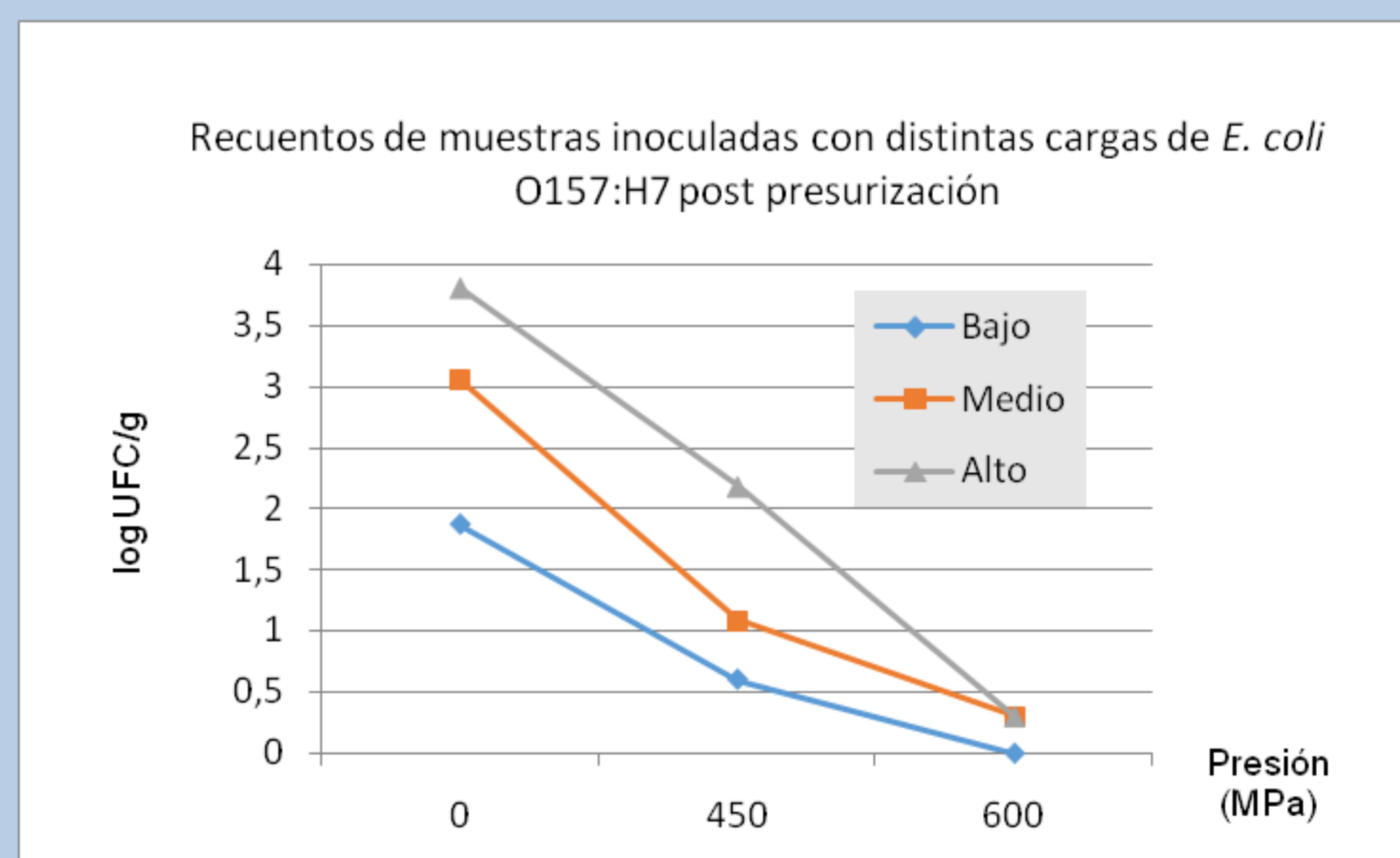


Figura 2. Resultados de los recuentos bacterianos en las muestras de 11 g de hamburguesas inoculadas con 3 cargas de *E. coli* O157:H7 post tratamiento a distintas presiones

PRESIÓN (MPa)	2 log (UFC/g)	3 log (UFC/g)	4 log (UFC/g)
	WP 1	WP 2	WP 3
450	+	+	+
600	-	+	+

Tabla 1. Resultados de detección de genes de virulencia *stx/eae* en muestras compuestas (WP) de las 3 muestras de hamburguesas inoculadas con 1×10^2 , 1×10^3 y 1×10^4 UFC/g de O157:H7.

Tabla 2. Resultados de la siembra del caldo de enriquecimiento individual en medio selectivo para confirmar la presencia de células viables. RCT: Recuperación de colonias típicas; No RC: No recuperación de colonias; NR: No Realizado.

PRESIÓN (MPa)	Inoculo inicial ~2 log			Inoculo inicial ~3 log			Inoculo inicial ~4 log		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
450	RCT	RCT	RC	NR	NR	NR	NR	NR	NR
600	NR	NR	NR	RCT	No RC	RCT	RCT	RCT	RCT

ETAPA 3 – Determinar cambios fisicoquímicos y microbiológicos en muestras de hamburguesas congeladas crudas frente a la tecnología de altas presiones

❖ Se analizó el color instrumental, pH y recuento de bacterias mesófilas aerobias totales (PCA, Oxoid, UK) a hamburguesas sometidas a 350, 450 y 600 MPa por 5 minutos a temperatura ambiente:

❖ En cuanto al pH, no se observaron diferencias significativas entre las muestras a las distintas presiones aplicadas. Con respecto al color, en la luminosidad (L) a 450 y 600 MPa se obtuvieron valores significativamente mayores, en relación a las muestras control y de 350 MPa; y en los ejes a y b, se observaron valores significativamente menores a las muestras control para todas las presiones (corrimiento hacia el verde y el azul).

❖ La aplicación de 600 MPa por cinco minutos, logró disminuir los recuentos totales de las hamburguesas hasta el límite de detección de la técnica demostrando, que al igual que lo observado con las cepas STEC, las altas presiones resultan efectivas para la disminución de la carga microbiana en estas matrices.

PRESIÓN (MPa)	Muestra 1 (UFC/g)	Muestra 2 (UFC/g)
0	3,7E+03	1,8E+03
350	710	340
450	(E) 40	(E) 30
600	<10	<10

Tabla 3. Resultado del recuento de la biota nativa en las muestras tratadas a distintas dosis de altas presiones.

Conclusiones

Las cepas STEC evaluadas presentan diferentes resistencias a las APH.

La dosis capaz de disminuir 5 órdenes de STEC fue de 600 MPa por 5 minutos a temperatura ambiente.

No se observaron cambios en el pH de las muestras evaluadas. Si bien se observaron cambios significativos en el color instrumental, debería evaluarse si este cambio es percibido por el consumidor o si el mismo afecta el color de hamburguesas cocidas.

En conclusión, el uso de la tecnología APH es apropiada como medida de control de STEC.

Referencias

- Butz P, Fernández A, Lindauer R, Dietrich S, Bogner A, Tauscher B. 2003. Influence of high pressure on fruit and vegetable products. *Journal of Food Engineering*. Vol 53: 233-236
- Marzocca M. A., P. L. Marucci, M. G. Sica, E. E. Álvarez. 2006. Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. *Revista Argentina de Microbiología* 38: 38-40.
- USDA, 2012. Risk Profile for Pathogenic Non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (non-O157 STEC). Consultado en: http://www.fsis.usda.gov/shared/PDF/Non_O157_STEC_Risk_Profile_May2012.pdf?redirecthttp=true el 29/04/2015

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.