

APLICACIÓN DE ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS EN HAMBURGUESAS CONGELADAS CRUDAS PARA EL CONTROL DE STEC

Mussio P. (1); Martínez I. (2); Soumastre M. (1); Jorcin S. (3); López T. (3)

(1)Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU); (2) Latitud - Fundación LATU; (3) Facultad de Química - Universidad de la República Oriental del Uruguay.

Latitud – Fundación LATU, Avda. Italia 6201 Ed. Los Abetos.
CP 11500, Montevideo. Uruguay
+598 26013724 int. 2165
imartin@latitud.org.uy

INTRODUCCIÓN

Las cepas de *Escherichia coli*, capaces de generar toxina Shiga (STEC) O157:H7 y no-O157:H7, han sido identificadas como patógenos alimentarios emergentes, capaces de provocar desde diarrea leve no sanguinolenta, hasta enfermedades renales severas como síndrome urémico hemolítico (SUH), e incluso la muerte. Dentro del grupo de cepas STEC, *E.coli* O157:H7 es la cepa que se asocia con más brotes, pero cada vez más se han encontrado cepas STEC no O157 responsables de casos esporádicos y brotes alimentarios, causando graves daños a quienes las consumen. La gravedad de las consecuencias ocasionadas, depende de la dosis consumida del patógeno y del sistema inmune del huésped, entre otros factores. En los numerosos brotes alimentarios por cepas STEC, se ha señalado al ganado vacuno como su principal reservorio y a la carne picada insuficientemente cocida como el vehículo más frecuente de los brotes [1,2], ya que es probable que la carne se pueda contaminar durante el proceso de sacrificio y faenado de los bovinos [3]. La hamburguesa es un producto cárnico de amplio consumo, que se elabora a nivel industrial y se vende congelado, se cocina y consume en el ámbito doméstico, así como en eventos sociales, deportivos y locales comerciales de venta masiva de comidas (fast food), asociado fundamentalmente a poblaciones más vulnerables como los niños.

Es por esto que surge el interés de aplicar tecnologías innovadoras dentro del proceso productivo que le permitan mejorar la calidad microbiológica y extender su vida útil. La tecnología de alta presión hidrostática (APH) es un procesamiento no térmico de alimentos que tiene el potencial de lograr alimentos de alta calidad. Utilizando presiones de hasta 650 MPa (aplicaciones comerciales) o 1400 MPa (investigación y desarrollo) se logra la inactivación de muchos de los microorganismos encontrados en productos alimentarios, mientras que pequeñas moléculas como aminoácidos, vitaminas, aromas y sustancias beneficiosas (como antioxidantes) no se verán afectados [4].

Tratamientos de 6 min a 600 MPa resultaron eficaces para evitar el crecimiento de levaduras y Enterobacterias generadoras de -off-flavors-, retrasando el crecimiento de bacterias ácido-lácticas y reduciendo el riesgo asociado a

Salmonella spp. y *Listeria monocytogenes* en bife de lomo marinado. Aymerich et al. (2008) detallan que es posible obtener 5 y 7 ciclos de reducción de mesófilos totales, *E. Coli* O157:H7, y flora alterante aplicando presiones de entre 450 y 700 MPa a temperaturas moderadas [5].

OBJETIVO

El objetivo principal consistió en 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 a distintas dosis del tratamiento.

Para ello se diseñó un plan de trabajo en distintas etapas:

- 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 tratamientos de altas presiones: 350, 450 y 600 MPa;
- 2) Determinar la dosis de altas presiones capaz 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 dosis de altas presiones.

MATERIALES Y MÉTODOS

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

Se inocularon muestras de hamburguesas 100% carne vacuna 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 dosis de 350, 450 y 600 MPa durante 5 minutos.

1.1- Inoculación de las muestras

85 muestras de 11 g de hamburguesas 100% carne vacuna se irradiaron con el objetivo de eliminar su microbiota nativa. Para inactivar la microflora nativa de las muestras previo a inocular, se trabajó con dosis medias de irradiación, llamadas dosis de pasteurización, en este caso se aplicaron dosis de 7K Gy dado que es la recomendada para carne congelada [6]. Se realizaron 7 grupos de 12 muestras, cada grupo se inoculó con una de las siete cepas STEC, con una carga aproximada de 6 log/g. Las suspensiones de inoculación se realizaron a partir de cultivos overnight de las diferentes cepas en caldo nutriente (Oxoid, Basingstoke, UK). Luego de la inoculación se realizó una homogenización manual (masajeo). Las muestras fueron mantenidas a -20 °C por 12-20 h hasta el momento de su tratamiento. En paralelo, se realizó el recuento de la suspensión de inoculación mediante TEMPO® TVC (Total Viable Count) y el recuento de aerobios totales de la muestra restante irradiada, para verificar que el tratamiento de irradiación hubiese efectivamente eliminado la flora nativa.

1.2 - Aplicación de Altas Presiones

El tratamiento con altas presiones se llevó a cabo utilizando el Equipo de Alta Presión Hidrostática modelo S-IL-100-250-09-W HP FOOD PROCESSOR, STANSTED FLUID POWER (Essex, UK). Previo al tratamiento, las muestras inoculadas congeladas fueron envasadas al vacío individualmente en bolsas Cryovac como envase secundario. Las muestras se mantuvieron congeladas hasta su tratamiento y se congelaron nuevamente luego del mismo. Las dosis de altas presiones utilizadas fueron de 350, 450 y 600 MPa durante 5 minutos. Se realizaron tres corridas de cada dosis, presurizando una muestra de cada cepa en cada corrida (63 muestras), las muestras restantes corresponden a muestras sin tratar (Dosis 0). El proceso se realizó incorporando las muestras en la cámara de presurización termostatazada previamente a 10°C; el fluido de presurización se llevó previamente a idéntica temperatura. La medición de la dosis se realizó con sondas de presión y temperatura ubicadas dentro de la cámara de presurización y los valores registrados por el sistema de adquisición de datos del equipo (ver Figura 1).

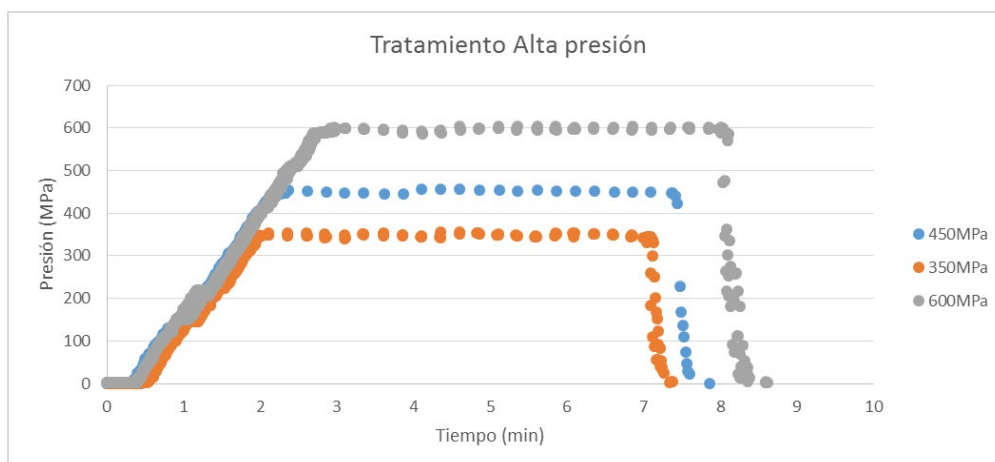


Figura 1. Ejemplo de adquisición de datos de presión en cada réplica de los tratamientos aplicados a las muestras de hamburguesas congeladas crudas.

1.3 - Recuentos bacterianos post-tratamiento

Luego del tratamiento de altas presiones, se realizó mediante siembra incorporada en Plate Count Agar (PCA, Oxoid, UK), el recuento de las bacterias viables presentes en las muestras, tanto de las tratadas como de las sin tratar.

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

2.1 Inoculación de muestras con cargas de 2, 3 y 4 log/g de *E. coli* O157:H7
27 muestras de 11 g de hamburguesas congeladas 100% carne vacuna previamente irradiadas para eliminar su microbiota nativa, se inocularon con distintas cargas de *E. coli* O157:H7: nueve muestras con aproximadamente 2 log/g, nueve con aprox. 3 log/g y las nueve restantes con aprox. 4 log/g. Luego de la inoculación se realizó una homogenización manual (masajeo). Las

muestras se mantuvieron a -20 °C hasta el momento de su tratamiento. El recuento de las suspensiones bacterianas se realizó mediante TEMPO® TVC (Total Viable Count).

2.2 Tratamiento de las muestras con altas presiones

Previo al tratamiento, las muestras inoculadas congeladas, fueron envasadas al vacío individualmente en bolsas Cryovac como envase secundario. 9 de las 27 muestras de hamburguesas de 11 g inoculadas fueron presurizadas a 450 y otras 9 a 600 MPa, ambas durante 5 minutos. Se realizaron tres corridas de cada dosis, presurizando una muestra de cada carga en cada corrida (18 muestras), las 9 muestras restantes corresponden a muestras sin tratar (Dosis 0). Las muestras se mantuvieron a -20 °C hasta el momento de su análisis.

2.3 Tratamiento de las muestras post-presurización.

Las muestras inoculadas con y sin tratamiento, se sometieron al recuento de aerobios totales mediante 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 los genes *stx* y *eae* se realizó un wet pool de las lisis correspondientes al mismo nivel de inóculo [7]. En los casos que el wet pool arrojaba un resultado positivo para ambos genes, se realizó la siembra del caldo de enriquecimiento individual en CHROMagar™ O157 (Chromagar, FR) de modo de confirmar la presencia de células viables.

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

3.1 Análisis fisicoquímicos

12 muestras, compuestas por cuatro unidades de 3 lotes distintos de hamburguesas congeladas crudas, fueron evaluadas para determinar el análisis del color instrumental y el pH de las muestras frente a distintas dosis de la tecnología de altas presiones. Cada unidad fue sometido a tres corridas de cada dosis definida: 350, 450 y 600 MPa por 5 minutos. Las unidades restantes, 1 de cada lote, corresponden al blanco del ensayo, siendo estas las muestras sin tratar. Previo al tratamiento, las muestras congeladas, fueron envasadas al vacío individualmente en bolsas Cryovac como envase secundario. Las muestras se mantuvieron congeladas hasta su tratamiento y luego del mismo se colocaron en cámara a 4°C por 24 horas.

3.1.1 Color instrumental

El análisis de color instrumental se realizó con un colorímetro Hunterlab LabScan® XE (Hunter Associates Laboratory Inc.), utilizando el iluminante A, observador 10° y un diámetro de apertura de 4,4 cm. Se obtuvieron los parámetros L (luminosidad), a* (rojo) y b* (amarillo). Se tomaron tres lecturas de cada condición de cada unidad analizada.

3.1.2 pH

Se realizaron a las muestras medidas de pH con un pHmetro METTLER TOLEDO Seven MultiTM (Suiza).

3.2 Análisis microbiológicos

Para determinar el efecto sobre la biota natural de las hamburguesas ante la aplicación de esta tecnología, las muestras antes y después del tratamiento, fueron sometidas al recuento de aerobios totales mediante siembra incorporada en Plate Count Agar (PCA, Oxoid, UK). En este caso se analizaron 8 muestras del mismo lote de producción, las cuales se trataron a dos corridas de las cuatro dosis de altas presiones previamente definidas (0, 350, 450 y 600 MPa por cinco minutos). Previo al tratamiento, las muestras inoculadas congeladas, fueron envasadas al vacío individualmente en bolsas Cryovac como envase secundario. Las muestras se mantuvieron congeladas hasta su tratamiento y se congelaron nuevamente luego del mismo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

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

Se observa que los tratamientos con altas presiones tienen el efecto deseado, disminuyendo la carga de las 7 cepas al aumentar la dosis aplicada. A la dosis de 600 MPa, se logró la disminución de 5 órdenes logarítmicos de estos patógenos alimentarios, valor considerado de seguridad como tratamiento para la reducción de patógenos para la industria alimentaria.

También se puede observar que la sensibilidad varía en función del serogrupo inoculado, siendo, de acuerdo a los resultados obtenidos, la *E. coli* O103 la más sensible a esta tecnología no térmica y la *E. coli* O157:H7 la más resistente (Tabla 1).

DOSIS	Recuento O103 (UFC/mL)			Recuento O26 (UFC/mL)			Recuento O45 (UFC/mL)			Recuento O121 (UFC/mL)			Recuento O157 (UFC/mL)			Recuento O145 (UFC/mL)			Recuento O111 (UFC/mL)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	1,3E+06	1,5E+06	1,6E+06	1,3E+06	2,0E+06	2,0E+06	1,5E+06	1,9E+06	2,7E+06	5,6E+06	6,6E+06	1,2E+07	1,5E+06	1,4E+06	2,1E+06	1,2E+06	1,1E+06	1,5E+06	1,4E+06	7,2E+05	1,3E+06
350	<100	<100	<100	5,7E+04	2,5E+04	2,3E+04	5,8E+04	6,3E+04	2,4E+04	2,0E+04	3,8E+04	7,0E+04	9,0E+04	5,3E+04	4,0E+04	4,9E+04	4,2E+04	1,6E+04	3,3E+04	3,5E+04	1,8E+04
450	<10	<10	20	2,8E+02	3,0E+02	1,1E+02	1,1E+02	5,8E+02	2,0E+02	2,7E+02	3,0E+02	1,5E+03	2,8E+03	2,6E+03	5,1E+03	10	30	80	1,7E+03	2,3E+03	1,4E+03
600	<10	10	30	30	20	<10	10	<10	<10	<10	<10	<10	10	20	30	<10	20	70	<10	<10	50

Tabla 1. Valores de los recuentos bacterianos luego de la presurización de las muestras de hamburguesas inoculadas con las distintas cepas STEC.

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

Luego de la aplicación de cada dosis de altas presiones, los valores de recuento de células viables descendieron, confirmándose lo ya ocurrido en la etapa 1. Si

bien para el inóculo más bajo, el valor de los recuentos fueron por debajo de los límites de detección de la técnica, para los inóculos más altos, aún con la dosis más alta de altas presiones utilizadas, se pudieron recuperar bacterias (Tabla 2). Estos resultados se verificaron a su vez en la etapa de detección de estas cepas, para el inóculo más bajo y la dosis más alta aplicada, se obtuvieron resultados negativos. En las muestras inoculadas con cargas de 3 log/g como de 4 log/g, se detectaron la presencia de los genes de virulencia de *E. coli* buscados (*stx* y *eae*), confirmando los resultados de los recuentos (Tabla 3).

Al mismo tiempo, se realizó la siembra de los caldos correspondientes a la carga 3 log - tratamiento 450 MPa, y los correspondientes a la carga 4 log – tratamiento a 600 MPa, en el medio cromogénico de modo de confirmar la presencia de las células viables las muestras individuales (Tabla 4).

DOSIS	Recuento total (UFC/g)			Recuento total (UFC/g)			Recuento total (UFC/g)		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
0	(E) 70	(E) 50	1,0E+02	1,1E+03	1,2E+03	1,1E+03	7,0E+03	5,6E+03	No se hizo
450	4,0E+00	<4	<4	<4	8,0E+00	1,6E+01	1,0E+02	1,9E+02	1,6E+02
600	<4	<4	<4	2,0E+00	2,0E+00	<4	2,0E+00	<4	2,0E+00

Tabla 2. Resultados de los recuentos bacterianos en las muestras de 11 g de hamburguesas inoculadas con 1×10^2 , 1×10^3 y 1×10^4 UFC/g de *E. coli* O157:H7.

DOSIS (MPa)	1,0E+02 (UFC/g)	1,0E+03 (UFC/g)	1,0E+04 (UFC/g)
	WP 1	WP 2	WP 3
450	+	+	+
600	-	+	+

Tabla 3. Resultados de la detección de los 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.

DOSIS	Inoculo inicial 100 UFC/g			Inoculo inicial 1000 UFC/g			Inoculo inicial 10000 UFC/g		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
450	RCT	RCT	RCT	NR	NR	NR	NR	NR	NR
600	NR	NR	NR	RCT	No RC	RCT	RCT	RCT	RCT

Tabla 4. 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.

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

3.1 Análisis fisicoquímicos: Color instrumental y pH

Los datos de pH y color instrumental se analizaron mediante modelos mixtos de uno o dos factores (dosis o dosis y lote), de modo de estudiar la variabilidad dentro de cada lote y entre lotes para cada variable estudiada con respecto a la dosis de alta presión a la cual fueron sometidos.

Para determinar la significancia en las diferencias entre muestras se utilizó el test post-hoc de Tukey (con un nivel del 5%) en los datos paramétricos (pH y color instrumental).

Con respecto al pH, no se observaron diferencias significativas entre las distintas dosis. Para todos los casos, el pH tomó valores cercanos a 6.09 (Tabla 5).

En cuanto al color, se dieron diferentes situaciones en las distintas medidas. En la variable Luminosidad se dio que las dosis de 450 y 600 obtuvieron valores significativamente mayores, en relación a las muestras control (dosis marcada como D0) y de 350 MPa. En el eje a (rojo-verde), la dosis "D2" (450) fue la que obtuvo los menores valores; no obstante en todas las muestras presurizadas se observaron valores significativamente menores a las muestras control (dosis D0); corrimiento hacia el verde.

Finalmente, en el eje b (amarillo-azul), se dio cierta paridad entre las tres dosis, siendo las tres significativamente menores a la dosis marcada como D0; corrimiento hacia el azul. En etapas posteriores, se prevé evaluar si estos cambios son perceptibles por los consumidores (estudios sensoriales) (Tabla 6).

ID	Dosis	Lote	pH	Promedios	
H Do 1.1	0	1	6,01	6,02	
H Do 1.2			6,03		
H D1 1.1	350		6,1	6,06	
H D1 1.2			6,09		
H D2 1.1	450		6,04	6,11	
H D2 1.2			6,07		
H D3 1.1	600		6,04	6,1	
H D3 1.2			6,07		
H Do 2.1	0		2	6,06	6,09
H Do 2.2				6,06	
H D1 2.1	350			6,09	6,1
H D1 2.2				6,09	
H D2 2.1	450	6,08		6,06	
H D2 2.2		6,12			
H D3 2.1	600	6,1		6,1	
H D3 2.2		6,07			
H Do 3.1	0	3		6,12	6,11
H Do 3.2				6,1	
H D1 3.1	350			6,09	6,06
H D1 3.2				6,1	
H D2 3.1	450		6,12	6,09	
H D2 3.2			6,1		
H D3 3.1	600		6,1	6,1	
H D3 3.2			6,1		

Tabla 5. Resultados de pH de las muestras tratadas con distintas dosis de altas presiones.

ID	Dosis (MPa)	Lote	L*	a*	b*
HDo 1.1	0	1	51.26	22.49	22.30
HD0 1.2			51.29	22.48	22.26
HD0 1.3			51.37	22.51	22.18
HD1 1.1	350		51.64	15.78	18.05
HD1 1.2			51.75	15.87	17.98
HD1 1.3			51.72	15.92	17.95
HD2 1.1	450		51.56	13.48	17.22
HD2 1.2			51.43	13.55	17.15
HD2 1.3			51.43	13.58	17.23
HD3 1.1	600		51.49	15.78	17.59
HD3 1.2			51.40	15.83	17.60
HD3 1.3			51.32	15.84	17.56
HD0 2.1	0	2	47.56	26.88	24.15
HD0 2.2			47.49	26.88	24.13
HD0 2.3			47.54	26.79	24.07
HD1 2.1			47.65	17.66	16.51

Tabla 6. Resultados de color de las muestras tratadas con distintas dosis de altas presiones.

3.2 Análisis microbiológicos

En la Tabla 5 se presentan los resultados obtenidos de los recuentos microbiológicos de las muestras tratadas, pudiéndose observar la disminución de la carga microbiana al aumentar la presión aplicada.

DOSIS	Muestra 1 (UFC/g)	Muestra 2 (UFC/g)	Promedio (UFC/g)
0	3,7E+03	1,8E+03	2,8E+03
350	710	340	5,3E+02
450	(E) 40	(E) 30	(E) 40
600	<10	<10	<10

Tabla 5. Resultado del recuento de la biota nativa en las muestras tratadas a distintas dosis de altas presiones.

CONCLUSIONES

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

Las cepas STEC evaluadas (O26, O45, O103, O111, O121, O145 y O157:H7) presentan diferentes resistencia a las de altas presiones, demostrándose que dosis superiores a 350 MPa provocaron una disminución relevante en los valores de los recuentos bacterianos.

La dosis de altas presiones promedio que permitió disminuir 5 órdenes de magnitud las cargas de siete STEC inoculadas a muestras de hamburguesas 100% carne vacuna fue de 600 MPa durante 5 minutos.

Esto demuestra que el uso de esta tecnología puede ser apropiada como medida de control de patógenos alimentarios logrando una reducción del peligro, adecuada para contribuir al Objetivo de Inocuidad Alimentaria (OIA) en pos de un nivel adecuado de protección al consumidor (NAP). Para ello, es necesario validar dicha medida, en las condiciones a ser aplicada por la industria de acuerdo al proceso y al alimento a procesar, para determinar así los parámetros del proceso (presión, tiempo, temperatura, etc.) y los límites de tolerancia de cada uno de ellos para cumplir con el objetivo definido que controle o reduzca el peligro en cuestión a niveles tales que garanticen la inocuidad del alimento. Es importante destacar que se trabajó con muestras de hamburguesas previamente esterilizadas por irradiación, y por lo tanto, para el caso de muestras naturalmente contaminadas los valores podrían diferir de los valores teóricos. Estos hallazgos resultan sumamente importantes debido a impacto en la salud pública que tienen las STECs, en particular el serogrupo O157:H7, por encontrarse asociado con varias y severas enfermedades de tipo diarreicas en el hombre [8].

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

La aplicación de una dosis de altas presiones de 600 MPa es capaz de eliminar de forma efectiva a la cepa *E. coli* O157:H7 cuando la misma fue inoculada en 11g de hamburguesas 100% carne vacuna en una carga de 2 log/g, lo que equivaldría a 1.1×10^3 células. Dado que de acuerdo a los resultados de la primera etapa, la *E. coli* O157:H7 fue la más resistente al tratamiento, se puede sugerir que a 600 MPa se podría eliminar una carga de 1.1×10^3 UFC de STEC. Por tanto, en este trabajo queda demostrada la aplicabilidad de la técnica de altas presiones como estrategia de mitigación de STEC en muestras de hamburguesas naturalmente contaminadas.

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

Es importante destacar que no existieron cambios a nivel de pH en las muestras procesadas por alta presión si las comparamos con las muestras control (D0). En relación al color instrumental, sí se observaron cambios significativos para las muestras procesadas por alta presión aunque no fue estudiado aún si estos cambios son o no percibidos por el consumidor, ni si el cambio afecta el color de las hamburguesas cocidas. Para las dimensiones a y b de color, los valores de las muestras procesadas a 350 y 600 MPa resultaron menos apartados de las muestras no presurizadas que las procesadas a 450 MPa.

Con respecto a la biota natural, tal como con las cepas STEC, las altas presiones fueron efectivas para su disminución. La aplicación de 600 MPa por cinco minutos, logró disminuir los recuentos totales de las hamburguesas hasta el límite de detección de la técnica.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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.
2. Masana M.O., B.A. D`Astek, P.M. Palladino, L. Galli, L.L. Castillo, C. Carbonari, G.A. Leotta, E.Vilacoba, K.Irino and M.Rivas. 2011. Genotypic Characterization of Non-O157 Shiga Toxin Producing Escherichia coli in Beef Abattoirs of Argentina.
3. Signorini M. L., V. Marín, C. Quinteros, H. Tarabla. 2009. Hábitos de consumo de hamburguesas y riesgo de exposición a Escherichia coli verotoxigénica (VTEC): modelo de simulación. Revista Argentina de Microbiología 41, 168-176.
4. Butz P, Fernández A, Lindauer R, Dietrich S, Bognar A, Tauscher B. 2003. Infuence of high pressure on fruit and vegetable products. Journal of Food Engineering. Vol 53: 233-236.
5. Aymerich T, P.A. Picouet, J.M. Monfort. (2008). Decontamination technologies for meat product. Meat Science, 78:114-129.
6. CFR 9, 1999. FSIS, Food Safety and Inspection Service. (1999). Irradiation of Meat Food Products. Federal Register. 64. (264) 72150-72166. 9 CFR Parts 381 abd 424. Docket No. 97-076F.
7. Mussio P., Martínez, I., Soumastre, M., Maquieira, A.M. (2014). Validación de la detección de STEC (O26, O45, O103, O111, O121, O145 y O157) en hamburguesas crudas mediante el uso de PCR a tiempo real (BAX® System Q7, DuPont) utilizando «WET POOLS». INNOTEC 2014, No. 9 (75 - 83) - ISSN 1688-3691 – 75.
8. 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.

IAFP – Resumen enviado y aceptado

Título:

APLICACIÓN DE ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS EN HAMBURGUESAS CONGELADAS CRUDAS PARA EL CONTROL DE STEC

Introducción

Las cepas de {Escherichia coli}, capaces de generar toxina Shiga (STEC), son potenciales patógenos alimentarios, provocando desde diarreas, 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.

Objetivo:

Evaluar el comportamiento de cepas STEC a diferentes tratamientos con APH en hamburguesas congeladas crudas y los cambios fisicoquímicos asociados a su aplicación.

Materiales y Métodos:

Etapa 1 – Inoculación de STEC y procesamiento por APH: Se inocularon hamburguesas de carne vacuna previamente irradiadas, con cepas de STEC (*E. coli* O26, O45, O111, O103, O121, O145 y O157) con una carga de 6 log UFC/g, aplicando altas presiones de 350, 450 y 600 MPa durante 5 minutos a temperatura ambiente. Luego de los tratamientos, se realizó el recuento de las bacterias viables.

Etapa 2 – Eliminación de distintas cargas de *E. coli* O157:H7 inoculadas en muestras de hamburguesas, mediante APH: Se inocularon hamburguesas con distintas cargas de *E. coli* O157:H7: 2, 3 y 4 log UFC/g y fueron presurizadas a 450 y 600 MPa durante 5 minutos. Las muestras se sometieron al recuento de mesófilos aerobios totales y búsqueda de STEC mediante rtPCR.

Etapa 3 – Determinación de cambios fisicoquímicos y microbiológicos en muestras de hamburguesas congeladas crudas procesadas por APH: Se analizó el color instrumental, pH y recuento de bacterias mesófilas aerobias totales a hamburguesas sometidas a 350, 450 y 600 MPa por 5 minutos a temperatura ambiente.

Resultados:

Etapa 1- 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 la más resistente.

Etapa 2- Los recuentos de células viables descendieron proporcionalmente a los niveles de presión aplicados, confirmándose los resultados de la etapa 1. Sin embargo, la detección de genes de virulencia (*stx* y *eae*), sólo fue negativa en las muestras conteniendo menor inóculo y tratamientos a mayor dosis.

Etapa 3- Con respecto al pH, no se observaron diferencias significativas entre las distintas presiones. En cuanto al color, en la luminosidad (L) a dosis de 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 dosis (corrimiento hacia el verde y el azul).

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.