

AISLAMIENTO DE *Salmonella* y *Escherichia coli* PATÓGENAS DURANTE EL PROCESAMIENTO DE HAMBURGUESAS EN UNA PEQUEÑA PLANTA DE MARACAIBO, VENEZUELA

Isolation of *Salmonella* and Pathogenic *Escherichia coli* during Processing of Hamburger Patty in a Small Plant of Maracaibo, Venezuela

Claudia A. Narváez¹, Katynna C. Parra², Nelson Huerta-Leidenz³, Argenis Rodas-González¹ y Lilia Arenas de Moreno³

¹Facultad de Ciencias Veterinarias. ²Facultad de Medicina. ³Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela. E-mail: claudianarvaez519@yahoo.es

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia y fuentes probables de contaminación de *Salmonella* y *Escherichia coli* patógenas en una pequeña planta procesadora de carne para hamburguesas con una producción promedio de 120 kg/día de producto. Se tomaron 52 muestras de ingredientes (n = 52): carne cruda industrial en bloques congelados (BLOCAR), carne molida recuperada para reprocesar (REPROCAR), soja texturizada reconstituida en bloques congelados (SOJATEX) y agua, así como 56 muestras de productos derivados en distintas fases operativas (n = 56): Troceado, Mezclado-Molido, Moldeado y Empacado, durante 7 semanas. Se utilizaron técnicas microbiológicas convencionales, pruebas bioquímicas completas y serotipificación de las cepas bacterianas. Los resultados revelaron en las muestras de los ingredientes BLOCAR y SOJATEX, proporciones similares (45%) de muestras positivas a *Salmonella*. *Salmonella* no fue encontrada en las muestras del producto final, sin embargo, la fase de moldeado fue la que mostró mayor proporción de muestras positivas a *Salmonella* (66%), seguida de la fase de molido-mezclado (22%) y troceado (11%). Un total de siete serotipos de *Salmonella* fueron aislados: *scharzengrund*, *braenderup*, *sinstorf*, *london*, *anatum*, *tenesse* y *derby*. En cuanto a las *E. coli* patógenas, no se detectó *E. coli* O157:H7. Cepas de *E. coli* positivas a los polivalentes somáticos de *E. coli* enteropatógenas y enterotoxigénicas, se encontraron con más frecuencia en las fases operativas que en ingredientes (excepto agua), hallazgos similares fueron para *E. coli* Enteroinvasiva, pero con resultados negativos a la prueba de Sereny. La ocurrencia generalizada de estos patógenos en planta, indicó po-

sibles fallas en la aplicación de programas sanitarios y fallas en la aplicación de buenas prácticas de fabricación, así mismo, se evidencia la necesidad de implementar y reforzar medidas efectivas de control.

Palabras clave: Hamburguesa, *Salmonella*, *E. coli*, patógenos, soja texturizada, procesamiento.

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the presence of *Salmonella*, pathogenic *E. coli* and to detect potential sources of contamination in a small meat processing plant of hamburgers with an average of production the 120 kg/day of product. Samples were taken from 52 ingredients (n = 52): raw meat in frozen blocks (BLOCAR), ground reprocessed meat (REPROCAR), texturized reconstituted soybean meal in frozen blocks (SOJATEX) and water, and from products derived in different operational phases (n = 56): cut up, mixed-ground, molded and final product during seven days. The detection analyses were performed using conventional microbiological techniques, biochemical tests and serotyped to isolated bacteria strains. The results revealed that samples from ingredients BLOCAR and the SOJATEX represented similar proportion (45%) of the positive samples of *Salmonella*. *Salmonella* was not detected in samples from the final products, however, the molded phase showed the larger proportion of positive samples of *Salmonella* (66%), followed by the ground-mixed and cut up samples (11%). A total of seven serotypes were isolated: *scharzengrund*, *braenderup*, *sinstorf*, *london*, *anatum*, *tenesse* and *derby*. Detection analysis did not detect Enterohemorrhagic *E. coli* (O157:H7). Strains of *E. coli* positive to the somatic polyvalent for the enteropathogenic and Enterotoxigenic was found for the most part in operative phases that in ingredients (except

water). Similar findings were detected for Enteroinvasive *E. coli*, but with negative result for the Sereny Test. The widespread occurrence of *Salmonella* and *E. coli* in the processing plant, indicate faults in the sanitation programs and the absence of good manufacturing practices. It also demonstrated the necessity of implementing and reinforcing effective control procedures.

Key words: Hamburger, *Salmonella*, *E. coli*, pathogens, textured soybean, processing.

INTRODUCCIÓN

La creciente demanda de hamburguesas de bajo costo, es atendida por mini empresas familiares de carácter artesanal o pequeñas plantas procesadoras, que producen hamburguesas para atender la demanda de los expendios ambulantes, estas mini empresas han sido poco evaluadas, en cuanto a la presencia de microorganismos patógenos como *Salmonella* y *E. coli* en Venezuela. Estas mini empresas, representan una realidad palpable de la economía informal de Maracaibo y en otras importantes ciudades del país.

Un estudio realizado en una pequeña planta de procesamiento de hamburguesas [12], ubicada en Maracaibo, Venezuela, le fue evaluada su calidad sanitaria mediante indicadores microbiológicos recuento de microorganismos aerobios mesófilos (AM), recuento de coliformes totales (CT) y *E. coli* (EC), y encontraron un elevado recuento por cada indicador, tanto en la materia prima utilizada en su elaboración, como en el producto derivado de las fases de procesamiento, revelando que esos hallazgos se debieron a deficiencias o inconsistencias en la aplicación de programas de saneamiento y al poco cumplimiento de la aplicación de Buenas Prácticas de Fabricación (BPF). Por lo tanto, el producto final representaba un peligro potencial para el consumidor, que puede verse afectado por agentes patógenos como las especies del género *Salmonella* y *E. coli* patógena que continúan siendo una de las causas principales de enfermedades en humanos, y según reportes epidemiológicos, las infecciones debidas al consumo de alimentos contaminados por estos gérmenes, va en aumento a nivel mundial [3, 4, 13, 17].

El número de infecciones por *Salmonella* no reportadas cada año en E.U.A, ha sido estimado, como de 20 a 100 veces el número de infecciones reportadas [18]. Igualmente, en ese país, el CDC (Center for Disease Control and Prevention) estima que cada año se presentan de 10.000 a 20.000 casos de diarreas por *E. coli* O157:H7 [11]. Estos patógenos entéricos están asociados a contaminación fecal, y pueden contaminar las canales durante el proceso de sacrificio, la conversión de los cortes de carne a carne molida hasta el producto final [5, 6, 9].

Por tal motivo, este estudio pretende evaluar la presencia de *Salmonella* y *E. coli* patógena en ingredientes y productos parciales de diferentes fases operativas, en una pequeña

planta procesadora de hamburguesas de la región zuliana, así como la identificación serológica de las cepas aisladas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

El estudio se realizó en una fábrica de hamburguesas, ubicada en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia. El volumen de producción de esta empresa era de pequeña escala, siendo para el momento del estudio de 120kg por día. La producción era destinada principalmente al mercado de expendios ambulantes de comida rápida de la ciudad y pequeños supermercados.

Los detalles del muestreo realizado para ingredientes proteicos, no proteicos (agua) y productos derivados de las fases operativas (troceado, mezclado-molido, moldeado y empaclado), realizado en esta investigación, están descritos en un artículo previo por Narváez y col. [12]

Después de tomadas las muestras, las mismas se mantuvieron en cavas refrigeradas a 4°C para luego ser trasladadas al laboratorio, a excepción de las muestras de producto terminado, que se tomaron al día siguiente, ya que las hamburguesas debían permanecer bajo congelación 24 horas antes de ser empacadas. Una vez transportadas y recibidas en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias, las muestras fueron procesadas en un lapso no mayor a 6 horas después de haber sido tomadas.

Determinación de *Salmonella* y caracterización serológica

Para la determinación de *Salmonella* se siguió la técnica descrita por la Food and Drug Administration (FDA) [7]. Sin embargo, se modificó la cantidad de muestra a agregar en el caldo Rappaport Vassiliadis (RV) (®HIMEDIA), utilizando 1,0 mL en vez de los 0,1 mL indicados por la referida técnica. Esto se basó en resultados obtenidos en un estudio piloto, donde se observaron resultados inconsistentes; ya que, se obtuvieron resultados positivos (para la misma muestra) en caldo tetratio-nato pero no en RV, por lo que se procedió a comparar el porcentaje de resultados positivos inoculando 0,1 y 1 mL de la muestra en el caldo RV, encontrándose mejores resultados inoculando 1 mL.

Se utilizaron dos cultivos control de *Salmonella* en la selección de colonias de *Salmonella* atípicas: *S. arizonae* lactosa positiva, H₂S positiva (ATCC 123215) y *Salmonella abortus equi* lactosa negativa, H₂S negativa (ATCC 9842). Se clasificaron como *Salmonella* todos los cultivos que exhibían reacciones típicas de *Salmonella* con las pruebas de: agar triple azúcar hierro (TSI), agar lisina-hierro (LIA), producción de H₂S, producción de ureasa, lisina descarboxilasa, cianuro de potasio (KCN), malonato y dulcitol, prueba de indol, prueba de polivalente flagelar y polivalente somático.

TABLA I
GRUPOS DE ANTIGENOS SOMÁTICOS (O) Y FLAGELARES (H) PARA *Salmonella* spp. (DENKA SEIKEN®)
SOMATIC (O) AND FLAGELAR (H) GROUP FOR *Salmonella* spp. (DENKA SEIKEN®)

Antisuero O	Aglutininas O	Antisuero H	Aglutininas H
Polivalente O	1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 12, 15, 19, 34, 46	H-a	a
Grupo O2	2	H-b	b
Grupo O4	4, 5	H-c	c
Grupo O7	7	H-d	d
Grupo O8	8	H-e,h	h
Grupo O9	9	H-G	g, m, s, t
Grupo O9, 46	46	H-i	i
Grupo O3, 10	19, 15, 34	H-k	k
Grupo O1, 3, 19	19	H-L	L, v, w
Polivalente O1	11, 13, 14, 16, 18, 21, 22, 23, 24, 35	H-r	r
Grupo O11	11	H-y	y
Grupo O13	13, 22, 23	H-e,n	n, x
Grupo O6, 14	14, 24	H-1	1, 2, 5, z ₆
Grupo O16	16	H-z	z
Grupo O18	18	H-z ₄	z ₄
Grupo O21	21	H-z ₁₀	z ₁₀
Grupo O35	35	H-z ₂₉	z ₂₉

Para las pruebas serológicas, se utilizaron kits comerciales de antisueros somáticos (O) y flagelares (H) para *Salmonella* (DENKA SEIKEN) (TABLA I), siguiendo las recomendaciones de la casa comercial para la realización de las pruebas. En el caso de organismos bifásicos, su tipificación fue realizada en el Centro de Referencia Bacteriológica del Hospital Universitario de Maracaibo.

Determinación de *E. coli* patógena y caracterización serológica

Las *E. coli* patógenas, se determinaron, a nivel de ingredientes proteicos, no proteicos (agua) y fases operativas (troceado, mezclado-molido, moldeado y empaquetado), según las técnicas descritas por la FDA [7].

Para la caracterización serológica, se utilizaron sueros ®FUVESIN, elaborados por el Instituto de Biomedicina del Hospital Vargas, y se siguieron las recomendaciones del fabricante. Las cepas se sembraron en placas con agar nutritivo (AN), se incubaron a 35°C por 24h, de modo de obtener colonias aisladas. Posteriormente se observaron las colonias en un microscopio estereoscópico, para seleccionar las colonias lisas y se procedió a sembrar dichas colonias en tubos de agar nutritivo ®Difco (AN) a 35°C por 24 h. Se tomó el crecimiento de cada cepa en AN y se suspendió en 250 µL de solución salina al 0,85%. Se confrontó una gota de la suspensión bacteriana con una gota de cada antisuero polivalente (®FUVESIN) (TABLA II). Como control positivo, se utilizaron cepas de *E. coli* enterotoxigénica, enteropatógena y enteroinvasiva suministradas por el Centro de Referencia Bacteriológica del Hospital Universitario de Maracaibo.

TABLA II
GRUPOS SOMÁTICOS POLIVALENTES PARA *E. coli*
(®FUVESIN)
POLIVALENT SOMATIC GROUP FOR *E. coli* (®FUVESIN)

<i>E. coli</i>	Polivalente	Serogrupo
Enteropatógena	I	O26, O55, O111, O145
	II	O86, O119, O127, O88
	III	O125, O126, O128
	VI	O114, O142, O158
Enteroinvasiva	I	O112ac, O152, O164
	II	O29, O143, O144
Enterotoxigénica	II	O28, O124, O136, O167
	I	O6, O25, O27, O78, O168
	II	O20, O63, O153, O166, O148
	III	O8, O15, O115, O159, O169

En el caso de *E. coli* enteroinvasiva, se procedió a comprobar el potencial invasivo mediante la prueba de Sereny, según las técnicas descritas por la FDA [7]. Esta prueba consiste en la inoculación del ojo derecho con una suspensión celular del serotipo en cuestión, en cobayos libres de lesión ocular (sin irritación, ulceración o infección) de 1 a 6 meses de edad. Después de la inoculación, los ojos de los animales se examinan diariamente durante 5 días y se registra una reacción positiva al desarrollarse una querato-conjuntivitis en el ojo tratado, no en

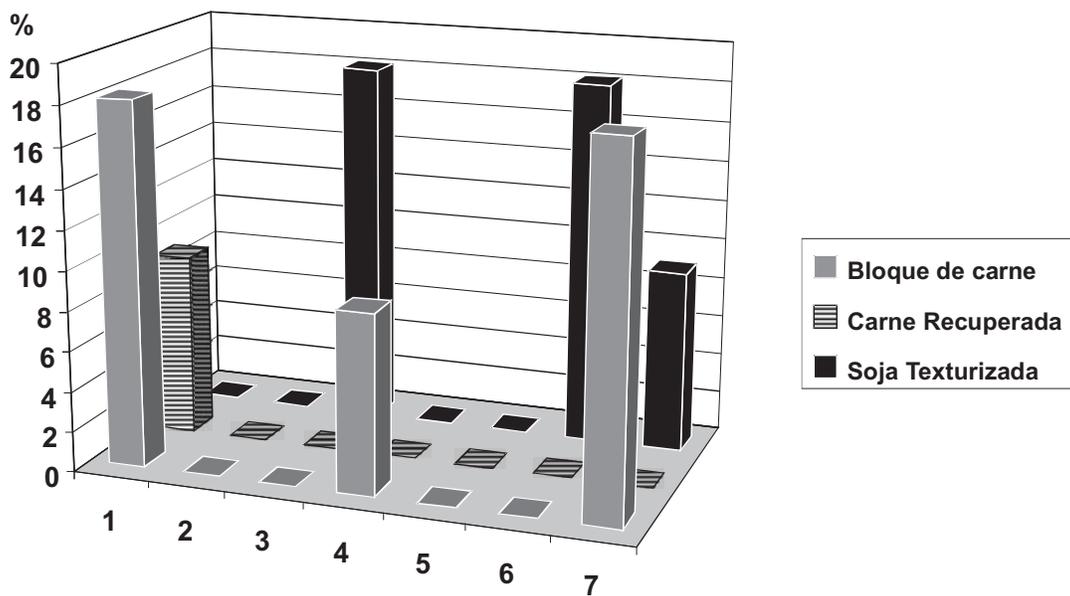


FIGURA 1. PORCENTAJE DE DETECCIÓN DE *Salmonella* spp. EN LOS INGREDIENTES POR SEMANA DE MUESTREO.

el control (ojo izquierdo). La confirmación se hace demostrando la localización intracelular de la bacteria en las células del epitelio corneal del ojo lesionado, utilizando la coloración de Giemsa y May-Grunwald. La bacteria se consideraba invasiva si la prueba era positiva al menos en dos de tres ensayos.

Para el aislamiento de la *E. coli* enterohemorrágica se utilizó la técnica descrita por la FDA [7]. Para su confirmación, las colonias positivas al indol, se les aplicó una prueba con suero comercial (DENKA SEIKEN®) para *E. coli* 0157:H7, grupo somático y flagelar. El cultivo control utilizado fue la cepa ATCC No. 700378 *E. coli* enterohemorrágica.

Análisis estadístico

Se determinó la proporción de muestras positivas a *Salmonella* y *E. coli* patógenas para la totalidad de las muestras de ingredientes proteicos, no proteicos (agua) y fases operativas (troceado, mezclado-molido, moldeado y empaçado), mediante un análisis de frecuencia utilizando el paquete estadístico SAS [15].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Salmonella

En la FIG. 1 se muestra el porcentaje detectado de *Salmonella* en los diferentes ingredientes por cada semana de muestreo. De las 52 muestras examinadas de ingredientes, el 21% del total, resultó positivo a *Salmonella*. Al desglosar este 21% de muestras positivas, se puede apreciar en la semana 1, que la carne cruda industrial en bloques congelados (BLOCAR) representó el 18%, y la carne molida recuperada para reprocesar (REPROCAR) el 9% del total de muestras positivas. En la semana 3, la soja texturizada reconstituida en blo-

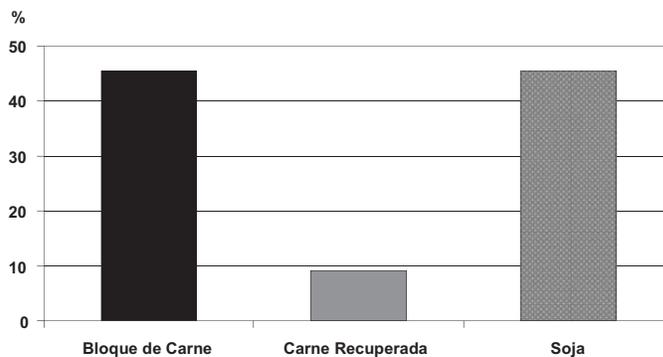


FIGURA 2. DETECCIÓN DE *Salmonella* spp. EN LOS INGREDIENTES.

ques congelados (SOJATEX) representó un 18% del total de muestras positivas. En la Semana 4, el BLOCAR representaba del 9% del total de muestras positivas a *Salmonella*. En la semana 5 no se detectó *Salmonella*. Para la semana 6 reapareció en la SOJATEX en un 18% y en la semana 7 se encontró en un 9% en SOJATEX y en el BLOCAR en un 18% del total de muestras positivas en los ingredientes.

En la FIG. 2 se muestra un resumen de la detección de *Salmonella* en los ingredientes. El BLOCAR y la SOJATEX constituyeron por separado la misma proporción (45%) de muestras positivas, mientras que la carne recuperada representó el 9% de las muestras positivas. Es posible que la presencia y distribución de *Salmonella* en los ingredientes utilizados se debiera a una contaminación cruzada.

Al observar el porcentaje de detección de *Salmonella* en las diferentes fases operativas por cada semana de muestreo (FIG. 3), se aprecia que de las 56 muestras evaluadas, 16% resultaron positivas, desglosadas de la siguiente manera: en la semana 3, el moldeado representó el 22% del total de mues-

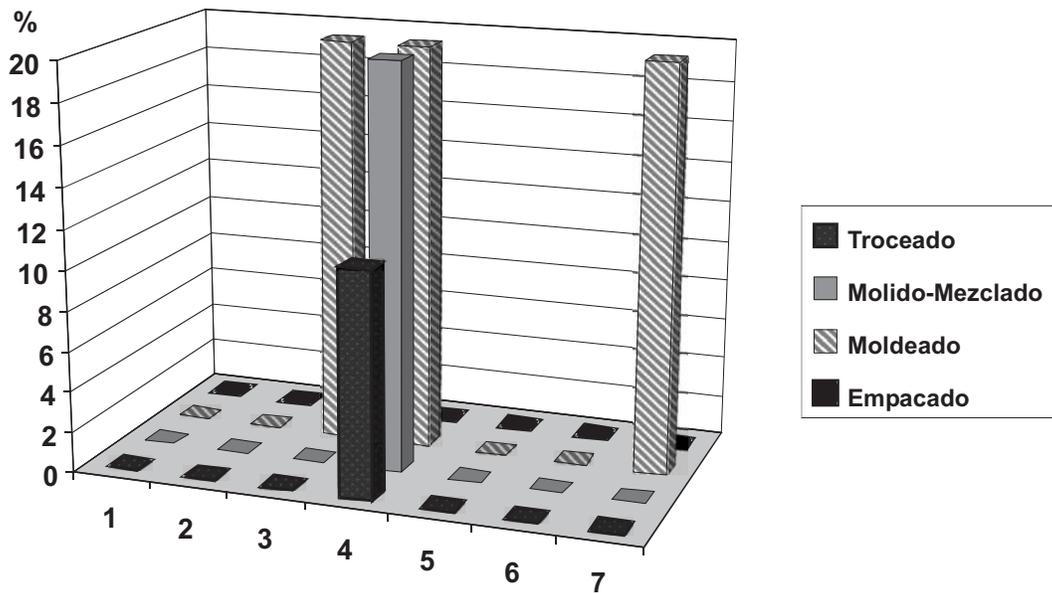


FIGURA 3. DETECCIÓN DE *Salmonella* EN LAS DIFERENTES FASES OPERATIVAS POR SEMANA DE MUESTREO.

tras positivas; en la semana 4, el troceado representó el 11%, el molido-mezclado un 22% y el moldeado un 22%. En las semanas 5 y 6 no se detectó *Salmonella*, pero reapareció en la semana 7 en la fase de moldeado con un 22%. Cabe destacar que para las semanas 5 y 6 se realizó una limpieza de los equipos y de la planta en general; sin embargo, para la producción de la semana 7 se adquirió materia prima de un nuevo proveedor, estos hechos pudieron haber tenido algún efecto en los resultados obtenidos.

En la FIG. 4 se muestra el resumen del porcentaje de *Salmonella* detectado en las diferentes fases operativas. La fase de moldeado fue la que presentó mayor proporción de muestras positivas a *Salmonella*, con 66% de ese total (16%), seguida de la fase de molido-mezclado con 22%, y troceado 11%.

En las semanas 5 y 6 no se detectó *Salmonella* en la fase de moldeado, debido, muy probablemente, a la limpieza efectuada en las máquinas después de la semana 4.

En el producto final empacado no se detectó *Salmonella*, cumpliendo con la Norma Nacional (ausencia en 25g) [2]. Sin embargo a pesar de los resultados, la sospecha de falsos negativos en producto empacado está presente, ya que, *Salmonella* es un organismo difícil de recuperar, y se necesitan analizar mayor cantidad de muestra para detectarlo. Es probable que la cantidad de muestra de carne empacada congelada, no fuera lo suficientemente grande y también pudo deberse a daños sufridos por las células bacterianas, por efecto de la temperatura de congelación (-27°C) durante el almacenamiento [4].

Es importante destacar que aun cuando el producto empacado cumpliera con la normativa, los resultados de este estudio sugieren que este patógeno pudiera aparecer en cualquier momento, ya que los mayores niveles de *Salmonella* se encontraron en el producto moldeado. En estudio previo en carne de hamburguesas realizado en Venezuela por Parra y

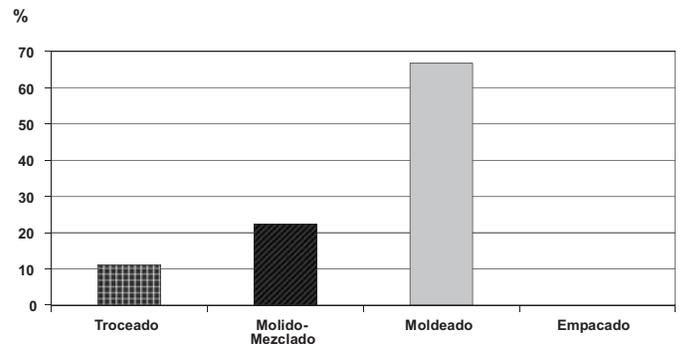


FIGURA 4. DETECCIÓN DE *Salmonella* spp. EN LAS DIFERENTES FASES OPERATIVAS.

col. [14], evaluaron la calidad microbiológica de tres marcas de hamburguesas empacadas congeladas, en tres expendios diferentes, reportando *Salmonella* en una de las marcas colectadas, lo que no descarta la presencia de este patógeno en el producto final. El aislamiento de *Salmonella* en carne de hamburguesa por otros investigadores indica una frecuencia de aislamiento que varía de cero a 4,3% [8,10].

Este comportamiento pudo deberse a problemas de manejo de ingredientes y a la inconstante y/o deficiente limpieza de equipos (constatado visualmente durante la fase de toma y recolección de muestras), lo cual pudo originar problemas de contaminación cruzada, lo que permitió el hallazgo de *Salmonella*-positivos en igual proporción, en el BLOCAR y la SOJA-TEX. Esto pone en evidencia, una vez más, la importancia de aplicar programas sanitarios eficientes y BPM para obtener un producto seguro.

En la TABLA III se muestra en resumen las especies de *Salmonella* y el grupo serológico al cual pertenece, aisladas en las muestras de ingredientes y fases operativas; las cuales

TABLA III
SEROTIPIFICACION DE CEPAS DE *Salmonella* AISLADAS
SEROTYPING OF STRAINS OF *Salmonella* ISOLATED

Especies de <i>Salmonella</i>	Grupo serológico
<i>Salmonella enterica</i> sub. <i>enterica</i> . serotipo <i>scharzengrund</i>	B
<i>Salmonella enterica</i> sub. <i>enterica</i> . serotipo <i>braenderup</i>	C1
<i>Salmonella enterica</i> sub. <i>enterica</i> . serotipo <i>sinstorf</i>	E1
<i>Salmonella enterica</i> sub. <i>enterica</i> . serotipo <i>london</i>	E1
<i>Salmonella enterica</i> sub. <i>enterica</i> . serotipo <i>anatum</i>	E1
<i>Salmonella enterica</i> sub. <i>enterica</i> . serotipo <i>tennessee</i>	C1
<i>Salmonella enterica</i> sub. <i>enterica</i> . serotipo <i>derby</i>	B

fueron: *scharzengrund*, *braenderup*, *sinstorf*, *london*, *anatum*, *tennessee*, *derby*. Contrario a estos resultados, en un estudio nacional, Belisario y Martínez [1], han reportado la presencia del serotipo *arizonae* en carne de hamburguesas crudas, recolectadas a nivel de supermercados.

Reportes del Centro de Referencia Bacteriológica del Hospital Universitario (Maracaibo, Venezuela) del año 1991 al 2000, indicaron el aislamiento de los serotipos *anatum*, *tennessee*, *scharzengrund*, *derby* y *sinstorf* entre otras, de pacientes con diarrea, estos serotipos coinciden con los aislados en el presente estudio.

En la TABLA IV se aprecia la distribución de los serotipos de *Salmonella* en los ingredientes y en las fases operativas; siendo las muestras de agua y producto empacado, los ítems en que no se detectaron la cepas antes descritas.

Es importante destacar que aunque en Venezuela no hay reportes de brotes de diarrea por *Salmonella* debidos al consumo de carne de hamburguesas, los hallazgos de este estudio podrían señalar a la carne de hamburguesas (insuficientemente cocidas) como un vehículo importante de infección por *Salmonella* en el país.

***E. coli* patógenas**

En ninguna de las muestras analizadas, siguiendo las técnicas de la FDA [7], se detectó *E. coli* O157:H7. Tarr y col. [16], utilizando técnicas similares, analizaron durante un año, 1400 muestras de carne molida en Seattle, E.U.A, obteniendo resultados negativos.

Con respecto a la *E. coli* enteropatógena, en la TABLA V se muestran las cepas de *E. coli* positivas a los polivalentes somáticos de *E. coli* enteropatógenas. Se encontraron cepas potencialmente patógenas en todos los ingredientes y en todas las fases operativas. La única muestra donde no se aisló fue en el agua. Es de hacer notar que los mayores serogrupos asociados con ETA incluyen: O55, O86, O111ab, O119, O125ab, O126, O127, O128ab, y O142 [4]. Las cepas aisladas fueron compatibles con los polivalentes que contenían estos serogrupos. Aunque no se determinó monovalentes, ni tampoco la patogenicidad potencial de las cepas aisladas, es probable que ciertas cepas sean patógenas. Más de la mitad de las cepas, se obtuvieron de las fases del procesamiento, lo cual nos indica una vez más, fallas en BPF y saneamiento durante el proceso.

En cuanto a *E. coli* enteroinvasiva, con la técnica de aglutinación, se evidenciaron 18 cepas como se muestra en la TABLA VI. Se observó una tendencia similar a la observada para *E. coli* enteropatógena, es decir un menor aislamiento de cepas en los ingredientes (5 cepas) que en las fases operativas (13 cepas); esto sugiere que el equipo, probablemente estaba previamente contaminado (limpieza deficiente de equipos

TABLA IV
DISTRIBUCIÓN DE SEROTIPOS DE *Salmonella* DURANTE EL PROCESAMIENTO
DISTRIBUTION OF *Salmonella* SEROTYPES DURING PROCESSING

Sem	Materia Prima				Fases Operativas			
	BLOCAR	REPRO	SOJATEX	AGUA	TROC	MOL-MEZ	MOLD	EMPACA
1	SSch	SB	nd	nd	nd	nd	nd	nd
2	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
3	nd	nd	SB, ST	nd	nd	nd	nd	nd
4	SS	nd	nd	nd	SD	SD	ST	nd
5	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
6	nd	nd	ST	nd	nd	nd	nd	nd
7	SL, SA	nd	SL, SB	nd	nd	SL, SB	nd	nd

Sem = semana.

Ingredientes: BLOCAR = bloque de carne congelada. REPRO = carne para reprocesar. SOJATEX = soja texturizada. AGUA = agua.

Fases operativas: TROC = troceado. MOL-MEZ = Molido-mezclado. EMPACA = empacado.

nd: no detectada.

Serotipos: SSch = *S. schwarzengrund*. SS = *S. sinstorf*. SL = *S. london*. SA = *S. anatum*. SB = *S. braenderup*. ST = *S. tennessee*. SD = *S. derby*.

constatado visualmente durante la fase de toma y recolección de muestras), o que la temperatura de procesamiento (27°C) pudo favorecer la multiplicación de estas bacterias. Todas las cepas mostraron resultados negativos a la prueba de Sereny. La positividad de cepas de *E. coli*, en pruebas serológicas de aglutinación, y la ausencia de correlación con la prueba de Sereny, podría explicarse. Se ha reportado que, ocasionalmente, las cepas fallan en mostrar correlación entre el serogrupo y el tipo de enfermedad; esto se debe a factores genéticos de virulencia; por ejemplo, la transmisibilidad de virulencia asociada a plásmidos y bacteriófagos que ocurre entre cepas de *E. coli* en sistemas *in vivo*, se pierden espontáneamente cuando las cepas se colocan en sistemas *in vitro* [20].

Los resultados obtenidos en este estudio, coinciden con los reportados por Villalobos [19], quien realizó un estudio en carne molida obtenida de carnicerías ubicadas en el mercado

Municipal de Cumaná, Venezuela. En este estudio se identificaron 290 cepas de *E. coli*, de las cuales 10 resultaron positivas por serología, utilizando también sueros [®]FUVESIN. De las 10 cepas, sólo 2 fueron positivas a la prueba de Sereny, atribuyéndose este comportamiento a la pérdida o inactivación de los genes que codifican la invasividad, específicamente del gen *ipaB*, por una delección.

E. coli enterotoxigénica, mostró una tendencia similar que el resto de las *E. coli* patógenas analizadas, se encontraron más en las fases operativas que en ingredientes, como se observa en la TABLA VII. Aunque no se determinó la producción de enterotoxinas, no se descarta la probabilidad de que lo sean.

CONCLUSIONES

Este estudio se determinó la presencia de *Salmonella* en los ingredientes y en el producto derivado de las fases de procesamiento, aunque no se detectó en el producto final. Sin embargo no se descarta que en algún momento pudiese representar un peligro potencial para el consumidor de este tipo de producto.

La presencia de *E. coli* positivas a serología para los grupos enteropatógenas, enteroinvasivas y enterotóxicas, en los ingredientes, fases operativas y producto terminado, advierten el riesgo de ETA para los consumidores del producto elaborado en esta planta.

El saneamiento inadecuado de equipos, la adquisición de materia prima de baja calidad microbiológica, la ausencia de BPF y programas sanitarios muestran problemas de contaminación cruzada a nivel de planta.

RECOMENDACIONES

Las pequeñas y medianas empresas, deben elaborar un programa de saneamiento, específico y cónsono con su

TABLA V
CEPAS POSITIVAS A POLIVALENTES DE *E. coli*
ENTEROPATOGÉNICA. POSITIVE STRAINS TO POLIVALENT
OF ENTEROPATHOGENIC *E. coli*

Muestra	n Cepas +	Polivalente
Ingredientes		
Agua	0	
Bloque de Carne	6	I(1), III(3), VI(2)
Carne recuperada	6	II(2), III(3), VI(1)
Soja texturizada	3	I(1), III(2)
Fases Operativas		
Troceado	8	III(7), VI(1)
Molido-Mezclado	5	III(3) VI(2)
Moldeado	5	III(1), VI(4)
Empacado	5	III(4), VI(1)
Total	38	I(2), II(2), III(23), IV(11)

TABLA VI
CEPAS POSITIVAS A POLIVALENTES DE *E. coli* ENTEROINVASIVA
POSITIVE STRAINS TO POLIVALENT OF ENTEROINVASIVE *E. coli*

Muestra	n Cepas +	Polivalente	Test de Sereny
Ingredientes			
Agua	0	0	
Bloque de Carne	4	I(1), II(2), III(1)	Negativo
Carne recuperada	1	II	Negativo
Soja texturizada	0		
Fases Operativas			
Troceado	2	II	Negativo
Molido-Mezclado	5	II	Negativo
Moldeado	5	I(1), II(4)	Negativo
Empacado	1	III	Negativo
Total	18	I, II y III	Negativo

TABLA VII
CEPAS POSITIVAS A POLIVALENTES DE *E. coli*
ENTEROTOXIGÉNICA. POSITIVE STRAINS TO POLIVALENT
OF ENTEROTOXIGENIC *E. coli*

Muestra	n Cepas +	Polivalente
Ingredientes		
Agua	0	0
Bloque de Carne	1	II
Carne recuperada	1	II
Soja texturizada	0	0
Fases Operativas		
Troceado	0	0
Molido-Mezclado	4	I(2), II(2)
Moldeado	1	I
Empacado	0	0
Total	7	I(3), II(4)

flujograma de producción, donde se establezca el cumplimiento riguroso de medidas sanitarias. Igualmente, conducir auto-inspecciones que monitoreen la condición microbiológica del proceso.

Se recomienda a las plantas procesadoras de hamburguesas a nivel nacional, que implanten una evaluación microbiológica periódica de sus proveedores de materia prima cárnica, de manera de verificar si cumplen con las normas sanitarias y BPF, para procurar una materia prima de mejor calidad microbiológica.

Los entes gubernamentales deben abocarse a la vigilancia del cumplimiento de las normas, tales como programas sanitarios y buenas prácticas de fabricación por parte de la industria de alimentos.

Aunque no se detectó la presencia de *E. coli* O157:H7, es importante su monitoreo periódico de la materia prima que se adquiere, y en lo animales de abasto de manera de verificar si estos son reservorios para este patógeno.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo fue posible gracias al apoyo del CONDES y del laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Se hace un especial agradecimiento al laboratorio del Centro de Referencia Bacteriológica del Hospital Universitario.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] BELISARIO, L.; MARTÍNEZ A. Evaluación de la Metodología para el Aislamiento de *Salmonella* a partir de Carne para Hamburguesa. **Boletín de la Sociedad Venezolana de Microbiología**. Vol. Extraord. 57: 57-58. 1998.

[2] Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN). **Hamburguesas**. Norma: 2127. 1998.

[3] D'AOUST, J.Y. *Salmonella* species. In: Doyle, M.P.; Beuchat, L.R. and Montville, T.J. (Eds.), **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Chap. 8. ASM Press, Washington D.C., EE.UU. 129-158pp. 1997.

[4] DOYLE, M.P.; ZHAO, T.; MENG, J.; ZHAO, S. *Escherichia coli* O157:H7. In Doyle, M.P.; Beuchat, L.R. and Montville, T.J. (Eds.), **Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers**. Chap. 10. ASM Press, Washington DC., EE.UU.. 171-189pp. 1997.

[5] DOYLE, M.P.; SCHOENI, J.L.; Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from retail fresh meat and poultry. **Appl. Environ. Microbiol.** 53(10):2394-2396. 1987.

[6] EISEL, W.G.; LINTON, R.H.; MURIARA, P.M. A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental sources, and ground beef in a red meat processing plant. **Food Microbiol.** (14):273-282. 1997.

[7] FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Bacteriological Analytical Manual**. Published and Distributed by AOAC International. 8th Ed. 8-81 pp. 1995.

[8] FOSTER, J.; FOWLER, J.; LADGES, W.A. Bacteriological Survey Raw Ground Beef. **J. Food Protect.** 40 (11): 720-794. 1977.

[9] GILL, C.O.; MCGINNIS, J.C.; Contamination of beef trimmings with *E. coli* during a carcass breaking process. **Food Res. Internat.** 33: 125-130. 2000.

[10] GUARINO, A.; FUSCO, G.; ROMANO, M.; MARCO, G.; DANI, A.; DE MARCO, G. Epidemiological Investigation on the presence of *Salmonella* in food of animal origin. **Ind. Aliment.** IA: 604-611. 1998.

[11] MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; MCCAIG, L.F.; BRESEE, J.S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V. Food-Related Illness and Death in the United States. **Emerg. Infect. Diseases.** 5(5): 607-624. 1999.

[12] NARVÁEZ, A.C.; PARRA, K.C.; HUERTA-LEIDENZ, N.; RODAS-GONZÁLEZ, A.; ARENA DE M, L.: Evaluación del Desempeño Higiénico al Procesar Hamburguesas en una Pequeña Planta de Maracaibo. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XI (6): 524-532. 2001.

[13] PADHY, N.V.; DOYLE, M.P. *Escherichia coli* O157:H7: Epidemiology, Pathogenesis, and Methods for Detection in Foods. **J. Food Prot.** 55(7):555-565. 1992.

[14] PARRA, Q.K.; PIÑERO, C.M.; NARVÁEZ, B.C.; HUERTA-LEIDENZ, N.; ARENAS, L. Evaluación Microbiológica y Físico-Química de hamburguesas Congeladas Expendidas en Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** Vol. XII (6): 715-720. 2002.

- [15] STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE (SAS) User's Guide: **Statistic. S.A.S** (Release 6,03), Cary, NC. 94 pp. 1989.
- [16] TARR, P.; TRAN, T.N.; WILSON, R.; *Escherichia coli* O157:H7 in Retail Ground Beef in Seattle: Results of a one year prospective study. **J. Food. Protect.** 62(2): 133-139. 1999.
- [17] TERUMI, O.F.; FERNÁNDEZ, S.A.; FRANCO, B. Prevalence and dissemination of *Salmonella* serotypes along the slaughtering process in Brazilian small poultry slaughterhouses. **J. Food Protec.** 63 (12):1749-1753. 2000.
- [18] TIETJEN, M.; FUNG, D. *Salmonella* and food safety. **Clin. Rev. Microbiol.** 21 (1): 53-83. 1995.
- [19] VILLALOBOS de B. L.B. Caracterización de Cepas de *Escherichia coli* Enteroinvasiva en un producto cárnico. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XIII(1): 7-11. 2003.
- [20] WOOD, P.K.; MORRIS, G.J.; SMALL, P.L.C.; SETH-ABUTR, O.; TOLEDO, M.; TRABULSI, L.; KAPER, J. Comparison of DNA Probes and the Sereny test for Identifications of invasive *Shigella* and *Escherichia coli* strains. **J. Clin. Microbiol.** 24 (3):498-500. 1986.