

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN
Y SERVICIO EN ZOOTECNIA

POSGRADO EN PRODUCCIÓN ANIMAL

INCIDENCIA DE *Escherichia coli* O157 Y *Salmonella* sp. EN CARNE DE BOVINO COMERCIALIZADA EN TEXCOCO

TESIS

Que como requisito parcial
para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

Presenta:

SAÚL HERNÁNDEZ AQUINO

Bajo la supervisión de: LUIS ALBERTO MIRANDA ROMERO, DR.



DIRECCIÓN GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



Junio 2013

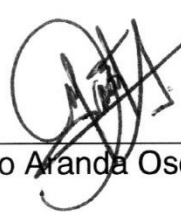
Chapingo, Estado de México

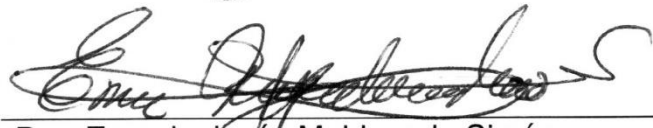
INCIDENCIA DE *Escherichia coli* O157 Y *Salmonella* sp. EN CARNE DE BOVINO COMERCIALIZADA EN TEXCOCO

Tesis realizada por **Saúl Hernández Aquino** bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN INNOVACIÓN GANADERA

DIRECTOR: 
Dr. Luis Alberto Miranda Romero

ASESOR: 
Dr. Gilberto Aranda Osorio

ASESOR: 
Dra. Ema de Jesús Maldonado Simán

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTOS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS.....	xii
1 INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Inocuidad alimentaria.....	3
2.1.1 Enfermedades transmitidas por alimentos	3
2.2 <i>Escherichia coli</i>	5
2.2.1 <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica	6
2.2.2 Patogénesis de EHEC.....	7
2.2.3 <i>Escherichia coli</i> O157:H7	10
2.3 <i>Salmonella</i>	11
2.3.1 Patogénesis de <i>Salmonella</i>	13
2.3.2 Salmonelosis.....	16
2.4 Detección y aislamiento	18
2.4.1 ELISA	19
2.5 Normatividad y especificaciones sanitarias para carne	20
2.5.1 Normas Oficiales Mexicanas para carne	20
2.5.2 Certificación México calidad suprema.....	23

2.5.3	Normatividad Internacional.....	24
2.6	Literatura citada	27
3	Incidencia de <i>Escherichia coli</i> O157 y <i>Salmonella sp.</i> en carne de bovino comercializada en Texcoco	37
3.1	Resumen	37
3.2	Abstract.....	38
3.3	Introducción	39
3.4	Materiales y métodos.....	42
3.4.1	Muestreo y manejo de muestras	42
3.4.2	Análisis de las muestras.....	43
3.5	Resultados y discusión	46
3.5.1	Análisis descriptivo de la carne muestreada	46
3.5.2	Análisis descriptivo de los locales comerciales con base en NOM-120-SSA1-1994	47
3.5.3	Presencia de <i>E. coli</i> O157 y <i>Salmonella sp.</i>	50
3.5.4	Composición química: proteína, colágeno, grasa y humedad.....	57
3.6	Conclusiones	58
3.7	Recomendaciones	59
3.8	Literatura citada	60
3.9	Apéndice.....	64

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. NOM-034-SSA1-1993, Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos para carne molida.	21
Cuadro 2. NOM-122-SSA1-1994. Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos.....	21
Cuadro 3. NOM-145-SSA1-1995. Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos.....	22
Cuadro 4. NOM-194-SSA1-2004. Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos (mamíferos y aves domésticas).	22
Cuadro 5. NOM-213-SSA1-2002. Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos.....	23
Cuadro 6. Criterios de seguridad alimentaria, carne y productos derivados.....	25
Cuadro 7. Criterios de higiene de los procesos, (carne y productos derivados).	26
Cuadro 8. Características descriptivas y organolépticas de la carne molida muestreada.	47
Cuadro 9. Calificación promedio de los aspectos considerados por la NOM-120-SSA1-1994.....	49
Cuadro 10. Porcentaje de incidencia <i>E. coli</i> O157 y <i>Salmonella sp</i> en carnicerías de acuerdo al número de muestreo.	53
Cuadro 11. Porcentaje de incidencia <i>E. coli</i> O157 y <i>Salmonella sp</i> en tianguis de acuerdo al número de muestreo.	54
Cuadro 12. Porcentaje de incidencia <i>E. coli</i> O157 y <i>Salmonella sp</i> en supermercados de acuerdo al número de muestreo.....	54
 Cuadro A1. Causas microbianas más frecuentes de las enfermedades transmitidas por alimentos en los EE. UU.: números estimados por enfermos, hospitalizados y muertos.	64

Cuadro A2. Características de las principales ETA, así como los alimentos implicados y las formas de prevenirlos.	65
Cuadro A3. Identificación bioquímica de <i>Escherichia coli</i>	69
Cuadro A4. Propiedades bioquímicas diferenciales de las subespecies de <i>Salmonella enterica</i>	70
Cuadro A5. Reactivos del kit VIA TECRA y su composición.	70
Cuadro A6. Escala de color que presentaron las muestras de carne molida....	71
Cuadro A7. Precio de la carne, precio real pagado, tipo de conservación y color de la carne.	71

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama del muestreo realizado en tianguis, carnicerías y supermercados con seis establecimientos para cada uno y cuatro muestreos en el tiempo.	43
Figura 2. Higiene de los establecimientos comerciales de carne, con base en la NOM-120-SSA1-1994.....	50
Figura A1. Criterio utilizado para considerar una muestra positiva.	73

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedicado a mi familia.

A mis padres **Saúl Hernández Morales** y **Rufina Aquino Pérez**, a mis hermanas **Lidia Elisa Hernández Aquino** y **Jannette Soledad Hernández Aquino**, y a mi sobrinito **José Antonio Hernández Aquino** gracias por su apoyo incondicional, paciencia y fe en mí.

A la persona que ha estado a mi lado **Diana Yadira Herrera Maldonado** gracias por el cariño, la comprensión y la ayuda brindada.

También a mis compañeros Juan, Elena, Trinidad, José Luis, Isabel, Deli, Jetzabel y Reyna, gracias por su compañerismo.



AGRADECIMIENTOS

A mi *alma mater* la Universidad Autónoma Chapingo y al Posgrado en Producción Animal por haberme brindado la oportunidad de continuar mi superación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al Consejo Mexiquense de Ciencia y Tecnología (COMECYT) por el financiamiento otorgado para el desarrollo y finalización de mis estudios de posgrado.

Al Dr. Luis Alberto Miranda Romero por sus esfuerzos realizados en la dirección de este proyecto.

A mis asesores Dr. Gilberto Aranda Osorio y Dra. Ema de Jesús Maldonado Simán por su paciencia y contribuciones en este trabajo de investigación.

Al Dr. Maximino Huerta Bravo por su apoyo y contribuciones.

A la Ing. Diana Yadira Herrera Maldonado por su apoyo en la toma de muestras y análisis microbiológico.

LISTA DE ABREVIATURAS

A/E	Attaching and Effacing (Adherencia y esfacelación).
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
ADN	Ácido desoxirribonucleico.
AMP	Adenosina monofosfato.
ARN	Ácido ribonucleico.
CH	Colitis hemorrágica.
CDC	Center for Disease Control and Prevention (centro para el control y prevención de enfermedades).
DAEC	Diffuse-Adherent <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> de adherencia difusa).
DEC	Diarrheagenic <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> diarreogénica).
EAEC	Enteraggregative <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> enteroagregativa).
EDTA	Ethylene diamine tetra acetic acid (ácido etilen-diamino-tetra-acético).
EE. UU.	Estados Unidos de América.
EHEC	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> enterohemorrágico).
EIEC	Enteroinvasive <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> enteroinvasiva).
EPEC	Enteropathogenic <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> enteropatógena).
ETEC	Enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> enterotoxigénico).
FDA	U. S. Food and Drug Administration (Administración de alimentos y drogas de EE. UU.).
H	Antígeno flagelar.
K	Antígeno capsular.
NC	Negative control (testigo negativo).
O	Antígeno somático.

OMS	Organización Mundial de la Salud.
PC	Positive control (testigo positivo).
PCR	Polymerase chain reaction (reacción en cadena de la polimerasa).
PMN	Polymorphonuclear neutrophils (neutrófilos polimorfo nucleares).
STEC	Shiga toxin-producing <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> productor de toxina Shiga).
SUH	Síndrome urémico hemolítico.
STX	Shiga toxin (toxina Shiga).
UFC	Unidad formadora de colonia.
VT	Verotoxin (verotoxina).
VTEC	Verotoxigenic <i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i> verotoxigenica).
SPI	<i>Salmonella</i> pathogenicity island (isla de patogenicidad de <i>Salmonella</i>).
SST	Secretion system (sistema de secreción).
Erk	Extracellular signal-regulated kinase (quinasa regulada por señales extracelulares).
JNK	Jun N-terminal kinase (quinasas c-Jun N-terminal).
Sop	<i>Salmonella</i> outer protein (proteína externa de <i>Salmonella</i>).
Sig	<i>Salmonella</i> invasion genes (genes de invasión de <i>Salmonella</i>).
SptP	<i>Salmonella</i> protein tirosin phosphatase (proteína tirosina fosfatasa de <i>Salmonella</i>).
GAP	Gtpase activating protein (proteína activadora de Gtpasa).
Sip	<i>Salmonella</i> invasion protein (proteína de invasión de <i>Salmonella</i>).
ORF	Open reading frame (marco de lectura abierto).

Unidades de medida

°C	Grados Celsius.
----	-----------------

h	Horas
kDa	Kilodaltones.
kpb	Kilopares de bases.
mg	Miligramos.
µg	Microgramos.
ng	Nanogramos.
Nm	Nanómetros.
min	Minutos.
mL	Mililitros.
µL	Microlitros.
seg	Segundos.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre	Saúl Hernández Aquino
Fecha de nacimiento	21 de agosto de 1985
Lugar de Nacimiento	Distrito Federal
CURP	HEAS850821HDFRQL09
Profesión	Ingeniero Agrónomo Especialista en Zootecnia
Cédula Profesional	6517494

Desarrollo Académico

Bachillerato	Preparatoria Agrícola Universidad Autónoma Chapingo (2000-2003)
Licenciatura	Departamento de Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo (2003-2007)
Maestría	Posgrado en Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo (2010-2012)

1 INTRODUCCIÓN GENERAL

La inocuidad de los alimentos está asociada a todos los riesgos que puedan afectar la salud del consumidor, ocasionados por la presencia de patógenos microbianos, toxinas y contaminantes químicos o físicos. Debido a esto, la obtención y garantía de la inocuidad debe ser un objetivo no negociable (Arispe y Tapia, 2007).

A menudo tiende a confundirse la inocuidad con la calidad. El concepto de calidad abarca una compleja gama de atributos que influyen en su valor o la aceptación del consumidor. Estas características incluyen el valor nutricional; propiedades sensoriales, como apariencia, color, aroma, textura y gusto; así como los métodos de elaboración y propiedades funcionales (Arispe y Tapia., 2007).

Las enfermedades gastrointestinales son el principal problema de salud pública, anualmente se enferman millones de personas a causa de alimentos contaminados. Según la OMS (2012) las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) fue la segunda causa de defunción en niños menores de 5 años a nivel mundial. Los principales agentes patógenos causantes de diarrea aguda incluyen: Rotavirus y otros tipos de virus intestinales, variedades diarreogénicas de *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Shigellae.*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholerae*, *Entamoeba histolytica*, entre otros (Marcos y DuPont, 2007).

Escherichia coli O157 y *Salmonella sp.* son las principales bacterias patógenas que contaminan la carne bovina, pueden infectar al humano con un bajo número de células 100 UFC g⁻¹ y 14⁴ UFC g⁻¹ respectivamente. Las serovariedades de *Salmonella sp.* producen principalmente fiebre tifoidea y paratifoidea mientras que *E. coli* O157 produce síndrome urémico hemolítico precedido por colitis hemorrágica (Riley *et al.*, 1983; D'aoust, 2009; OMS, 2012).

El tracto intestinal del ganado bovino es el principal reservorio de estos patógenos por lo que la carne y leche así como sus derivados son los principales vehículos de transmisión (Todd, 1997; FDA, 1999).

Salmonella sp. se distribuye en todo el orbe, mientras que *E. coli* O157 solo se ha reportado en países EE. UU. y Argentina, donde se le aísla habitualmente de las unidades de producción bovina mientras (OMS, 2012).

La Secretaria de Salud reporta que, en México, se aísla principalmente las serovariedades *Salmonella* Paratyphi y *S. Typhimurium* mientras que *E. coli* O157 aún es reconocido como un patógeno presente en el país, a pesar de que se ha reportado su presencia en explotaciones ganaderas y mataderos (Paniagua *et al.*, 2007; Garza, 2010).

En este sentido, el presente trabajo pretende probar si *E. coli* O157 y *Salmonella sp.* están presentes en carne molida de res y determinar en qué establecimientos es más riesgoso adquirir carne contaminada.

En el Capítulo 2 se hace una revisión de literatura que aborda las principales características de ambas bacterias, sus mecanismos de patogenicidad, padecimientos que producen, métodos de detección y las especificaciones sanitarias que aplican a la carne de bovino.

En el Capítulo 3 se presentan los resultados obtenidos de un estudio que determino la prevalencia de *E. coli* O157 y *Salmonella sp.* en carne molida de bovino comprada en tres tipos de establecimientos, utilizando un kit ELISA de detección rápida, en la ciudad de Texcoco de Mora, Estado de México.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Inocuidad alimentaria

La inocuidad se define como la “garantía de que un alimento no causará daño al consumidor cuando el mismo sea preparado e ingerido de acuerdo con el uso que debe dársele”, siempre con un nivel de riesgo aceptable. También puede entenderse como la implementación de medidas que protejan al consumidor, reduciendo en los alimentos, los contaminantes físicos, químicos y biológicos (Roberts y Orden, 1999; Codex Alimentarius, 2003; Martínez *et al.* 2008).

Un alimento se considera inocuo cuando carece de cualquier contaminante o está en una cantidad tan baja que no hay efectos adversos significativos a la salud en el corto o largo plazo (Essers, 2005; Arispe y Tapia, 2007).

El incremento del comercio mundial aumenta los riesgos del consumo de alimentos no inocuos. Para minimizar tales riesgos es necesario que la producción, abastecimiento, comercialización, manipulación y consumo de alimentos se realicen en condiciones suficientemente higiénicas. Identificar los peligros y su probabilidad de ocurrencia, desde que los alimentos se producen hasta que llegan a la mesa del consumidor. El planteamiento preventivo promueve la implementación de buenas prácticas agrícolas (BPA), buenas prácticas de manufactura (BPM), y sistemas de inocuidad como el HACCP (FAO, 2002; Avendaño *et al.*, 2006; Henríquez y Lizano, 2008).

2.1.1 Enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) se definen como un conjunto de síntomas y signos clásicos originados por el consumo de agua o alimentos contaminados con agentes patógenos o sustancias tóxicas, en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica (Barreto, 2010; USDA, 2011).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1999) la contaminación biológica es la causa más frecuente de ETA, estas resultan de la ingestión de

alimentos contaminados con microorganismos patógenos vivos, o sus toxinas (Mead *et al.*, 1999).

En ese contexto se necesita identificar los principales factores que pueden intervenir como causas de infecciones e intoxicaciones alimentarias o su combinación (Cuadro A1), para determinar, controlar y prevenir a los consumidores sobre los peligros que pueden ocasionar alimentos mal producidos o procesados (Kopper y Calderón, 2009).

Las personas que adquieren una ETA presentan síntomas como vómito, dolor abdominal, diarrea y fiebre; la intensidad depende del patógeno, el grado de contaminación y la cantidad de alimento ingerido. Generalmente las personas saludables sanan en lapsos cortos de tiempo, mientras que en los grupos vulnerables (niños, ancianos, mujeres embarazadas o enfermos de otros padecimientos) los síntomas pueden ser severos, dejando secuelas o producir la muerte (Rodríguez-Ángeles, 2002).

Se considera a las ETA como uno de los problemas de salud más relevantes, por su impacto social, tecnológico, económico, cultural y político. Se estima que cada año se producen 1,500 millones de episodios de diarrea que ocasionan 3 millones de muertes en niños menores de 5 años y dependiendo del país de 15 a 70% de esos casos son causados por alimentos contaminados. También se estima que en países industrializados se informa sólo el 10% de los casos, mientras que en los países en vías de desarrollo se informa solo el 1% (FAO/OMS, 2006).

En los países desarrollados se han implementado estrategias para el control de la inocuidad alimentaria mientras que en los países en vías de desarrollo esas estrategias son menos conocidas y se dificulta su implementación (Flores y Herrera, 2005).

La situación sobre el control sanitario de los alimentos en los países en vías de desarrollo dista todavía de llegar a los niveles de control sanitario aceptables, sobre todo en el caso de alimentos consumidos popularmente. Por ser, las ETA, un problema recurrente en estos países las autoridades, instancias

gubernamentales e instituciones afines, del sector público como privado, deberían dirigir programas vigilancia y asistencia continua para prevenir y corregir situaciones que pueden ser muy peligrosas y que pueden afectar adversamente la salud de la población (FAO/OMS, 2006; Kopper y Calderón, 2009).

Los alimentos de origen animal son los más vinculados a brotes de ETA (Cuadro A2). Las circunstancias que más influyen sobre los brotes de ETA son el aumento de la población, el aumento de grupos vulnerables, la necesidad de transportar alimentos a los centros de trabajo, la preferencia por alimentos de preparación rápida, el consumo de alimentos en comedores institucionales, la falta de capacitación para la manipulación de alimentos, el consumo de alimentos en la vía pública (FAO/OMS, 2006).

2.2 *Escherichia coli*

El género *Escherichia* pertenece a la tribu *Eschericheae*, de la familia Enterobacteriaceae. Las bacterias del género *Escherichia* son bacilos, Gram negativos, anaeróbicos facultativos, se distinguen por sus características bioquímicas (Cuadro A3) y forman parte de la micro biota normal del tracto intestinal de animales de sangre caliente (Rodríguez-Ángeles, 2002).

E. coli coloniza el intestino pocas horas después de nacido el individuo y unos días después constituye la mayoría de la población comensal anaerobia facultativa, forma una relación simbiótica con el hospedero protegiéndolo contra microorganismos ajenos y proporcionándole vitaminas que del complejo B y K que ella misma sintetiza. Debido a que siempre se encuentra en las heces de los animales se le considera indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos (Nataro y Kaper, 1998).

La especie *E. coli* no es patógeno, solo algunas cepas o serovariedades lo son, por lo que su presencia en alimentos, ambiente o pacientes no certifica la etiología de una infección o brote de ETA. A pesar de esto cepas específicas pueden tener características patógenas y producir enfermedades como infección urinaria, septicemia, meningitis, gastroenteritis (Olivet, 2008).

La identificación de las cepas patógenas se logra mediante un esquema de serotipificación basado en su estructura antigénica que comprende los antígenos; somático (O), flagelar (H), fimbria (F), capsular (K), entre otros (Nedra *et al.*, 2012). Actualmente se clasifican en más de 170 serogrupos (Olivet, 2008). Filogenéticamente está más relacionado con el género *Shigella* que con el de *Salmonella* (Fukushima *et al.*, 2002).

Los cepas de *E. coli* causantes de diarrea se clasifican, con base a su patogenicidad y cuadro clínico, en seis grupos: enterotoxigénica (ETEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC), de adherencia difusa (DAEC), enteroinvasiva (EIEC) y enterohemorrágica, productora de toxina Vero o toxina tipo Shiga (EHEC, VTEC o STEC) (Riverón, 1999; Rodríguez-Ángeles, 2002; Olivet, 2008).

2.2.1 *Escherichia coli* enterohemorrágica

La diarrea con sangre no invasiva tiene como prototipo a la *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC). Los bovinos son reservorios de EHEC VTEC y STEC, las cuales son excretadas en sus heces por lo que durante el ordeño y el faenado es posible que se contamine la leche y carne lo que constituye una fuente de infección para el hombre. Una población de 100 UCF g⁻¹ de producto es suficiente para infectar al consumidor (Field *et al.*, 1989; Riverón, 1999; Ferens y Hovde, 2011).

Konowalchuk *et al.* (1977) descubrieron que los serotipos O18, O26, O111 y O128 de *E. coli* producen citotoxinas que actuaban sobre células vero. Karmali *et al.* (1983) las llamaron *E. coli* verotoxigenica (VTEC) y a las toxina verotoxina (VT).

O'Brien *et al.* (1982) observaron que la antitoxina obtenida a partir de *Shigella dysenteriae* tipo I, neutralizaba las citotoxinas producidas por cepas de *E. coli*, que afectan las células HeLa, por lo que a las cepas les llamaron *E. coli* productora de toxina tipo Shiga (STEC) y a la toxina *shiga-like toxin* (SLT) o *shiga toxin* (STX).

Las STX son proteínas multiméricas compuestas por dos polipéptidos, un pentámero de adhesión formado por cinco subunidades B y una subunidad A (fracción enzimáticamente activa). La secuencia de la toxina STX1 está altamente conservada, mientras que existe variación en las secuencias de STX2, resultando en numerosas variantes (Schultz, 1980; Read, 1992,).

Riley *et al.* (1983) caracterizaron un brote, causado por el consumo de hamburguesas, que producía un cuadro clínico al que llamaron colitis hemorrágica (CH). Los síntomas aparecen después de unas horas o inclusive después de algunos días, se caracteriza por intensos espasmos intestinales, dolor abdominal, diarrea acuosa con sangre y fiebre ligera o nula (Powell y Fan, 1984).

Existen dos clasificaciones del grupo EHEC, una es en función de la presencia de sus factores de patogenicidad en las que hay cepas típicas, que poseen el bacteriófago STX, el plásmido pO157 de 60 MDa y presentan el fenómeno de adherencia y esfacelación (A/E); y cepas atípicas que no producen lesiones de A/E y pueden presentar o no el plásmido de 60 MDa. La otra clasificación es en función del serotipo: cepa *E. coli* O157:H7 y cepas no-O157:H7 (Rahal, *et al.*, 2012).

Las cepas no-O157:H7, pueden ser sorbitol positivo, y sus serotipos son diferentes del O157:H7. El cuadro clínico causado por las cepas no-O157 se caracteriza por diarrea acuosa con dolor abdominal y colitis hemorrágica. Estas cepas son capaces de causar brotes o casos aislados de diarrea y se pueden aislar de los mismos alimentos que las cepas de serotipo O157:H7 (Blanco *et al.*, 1995; Schmidt *et al.*, 1999; WHO, 1999).

2.2.2 Patogénesis de EHEC

El principal mecanismo de patogenicidad de EHEC es la citotoxina STX, esta tiene dos variantes inmunológicamente diferentes la STX1 y STX2. Para que un paciente desarrolle colitis hemorrágica es necesario que la cepa de *E. coli* posea

el bacteriófago STX insertado el genoma y sintetice una o ambas toxinas (O'Brien y Holmes, 1987; Cravioto *et al.*, 1988; Nataro y Kaper, 1998; Bono *et al.*, 2012).

La mayoría de las cepas productoras de colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH) en humanos, presentan megaplásmidos (Mp). El plásmido pO157 (60 MDa) codifican para una fimbria de adherencia y está implicado en la expresión de la enterohemolisina EHEC (HlyEHEC) y una adhesina autoaglutinante de VTEC (Schultz y Curran, 1974; Powell y Fan, 1984).

También, poseen un mecanismo especial de adherencia al enterocito, denominado fenómeno *attaching and effacing* o adherencia y esfacelación (A/E) que se caracteriza por una íntima adherencia de la bacteria a la célula intestinal perdiendo micro vellosidades en el sitio de adhesión. El fenómeno está codificado por un conjunto de genes típicos de EPEC y VTEC, contenidos en una región cromosomal denominada LEE o locus de borrado del enterocito. Dentro de esta región se encuentra el gen *eaeA*, cuyo producto es una proteína de membrana externa (OMP) de 94 kDa denominada intimina, cuya expresión es regulada por genes plasmídicos. En cepas negativas para LEE se ha encontrado el gen *Saa* en el Mp, pudiendo ser uno de los mecanismos que intervienen en la adherencia de estas cepas carentes de intimina (Donnenberg *et al.*, 1993; Schmidt *et al.*, 1995; Ogura *et al.*, 2009).

El mecanismo de infección comienza cuando la cepa STEC llega al intestino, allí sintetiza fimbrias con las que se adhiere a los enterocitos sin invadirlos, causando alargamiento de las microvellosidades que la rodean. El dominio central extracelular del receptor de íntima translocado (Tir) actúa como receptor de la adhesina intimina de la bacteria. Simultáneamente, Tir interactúa mediante sus dominios intracelulares N^o y C^o terminal, con diversas proteínas del citoesqueleto uniéndolo íntimamente la bacteria al enterocito. Se produce la desorganización de las microvellosidades con producción de la lesión A/E y acumulación de filamentos de actina en el citoplasma. La reducción de la superficie de absorción provoca diarrea sin sangre (Hartland *et al.*, 1999; Goosney *et al.*, 2001; Frankel *et al.*, 2001).

Cuando la cepa completo la adherencia libera la STX, esta se une a las células epiteliales del intestino a través de la subunidad B por interacción con el receptor Gb3 que se encuentra en la membrana apical. Las toxinas se internan mediante endocitosis dentro de las células que presentan en su membrana el grupo glicolípido P1 (endoteliales, epiteliales y hematíes). La STX se interna en una vesícula endocítica, y es transportada al aparato de Golgi, donde la subunidad A es escindida proteolíticamente liberando un fragmento A1, el cual actúa sobre la subunidad ribosomal 60S y cuya actividad catalítica resulta en un bloqueo irreversible de la síntesis proteica provocando la muerte celular (Rivas *et al.*, 2008; Ogura *et al.*, 2009; Gautam *et al.*, 2012).

La STX también puede cambiar de posición desde la membrana apical a la superficie basolateral, 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 (Garmendia *et al.*, 2005).

Cuando STX entra a la circulación sanguínea puede llegar a distintos órganos 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 (Navarro *et al.*, 2007).

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. Las lesiones histopatológicas ocurren por interacción de la STX con las células endoteliales de los vasos sanguíneos, las cuales se hinchan y desprenden a nivel del glomérulo. Simultáneamente se produce un depósito de fibrina y de plaquetas en los micro vasos sanguíneos del riñón, se oclucionan los capilares y se reduce el flujo sanguíneo, provocando insuficiencia renal y lisis de los glóbulos rojos. También se observan trombosis, particularmente en los capilares del intestino, cerebro y páncreas (Nataro y Kaper, 1998; Jenkins *et al.*, 2003; Garmendia *et al.*, 2005).

Las pruebas para evidenciar el mecanismo de patogenicidad STX1 y STX2 de EHEC son la serotipificación, efecto citopático en células Vero HeLa causado por STX, ELISA, aglutinación en látex, inmunofluorescencia, separación inmunomagnética, extracción de plásmido, hibridación, PCR (*eae*, SLT1, SLT2, plásmido pO157), campos pulsados y fagotipificación (Eslava *et al.*, 1994; Nataro y Kaper, 1998).

Epidemiológicamente los niños y adultos mayores son los más susceptibles a enfermarse con mayor gravedad al adquirir la bacteria. Los serogrupos y serotipos más comunes son: O157:H7, O26:H11, O103:H2, O113:H21, O119, O128 y O145 (Eslava *et al.*, 1994; Schmidt *et al.*, 1999).

2.2.3 *Escherichia coli* O157:H7

Estudios dirigidos hacia la caracterización de *E. coli* serotipo O157:H7 revelan que los marcadores bioquímicos de dicho patógeno son significativamente diferentes a los de *E. coli* genérico (Ratnam *et al.*, 1988).

Este serotipo no fermenta el D-sorbitol ni la ramnosa y no produce β -glucuronidasa. Su infección en el humano puede producir colitis hemorrágica y SUH. *E. coli* O157:H7 se puede encontrar en bovinos, cabras, borregos y con menos frecuencia en cerdos y pollos; su principal reservorio es el intestino de ganado bovino, por lo que la colitis hemorrágica causada por O157:H7 es considerada como una zoonosis (Riley *et al.*, 1983; Karmali *et al.* 1983; WHO, 1999).

También se ha logrado aislar de frutas y vegetales como lechuga, rábanos, alfalfa; además en productos industrializados con bajo pH como mayonesa, jugo de naranja y manzana no pasteurizados. La infección de *E. coli* O157:H7 se da por ingerir carne cruda o mal cocida, leche bronca, agua contaminada y también de persona a persona (Tarr, 1995; Mattar y Vásquez, 1998,).

Kobayashi *et al.* (1999) indican que la mosca doméstica también actúa como vector de *E. coli* O157:H7.

Desde el año 2000 ha aumentado el número de reportes de brotes de esta enfermedad en EE. UU. y Canadá vinculados principalmente con la ingestión de leche no pasteurizada y hamburguesas de bovino mal cocinadas (Olivet, 2008).

Algunas personas no presentan síntomas y se convierten en portadores. El tiempo promedio de eliminación es de 17 días luego de la aparición de los síntomas (Powell y Fan, 1984; CFIA, 2009).

La contaminación puede reducirse drásticamente si se extreman medidas higiénicas. El seguimiento epidemiológico debe ser riguroso. Para prevenir infecciones se debe realizar un estricto control del cumplimiento de las normas de faena e higiene, pasteurización de la leche, ya sea para consumo o como materia prima de productos derivados (Field *et al.*, 1989).

El aspecto clínico más relevante de la O157:H7 es su habilidad para causar el SUH, caracterizado por anemia microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal (O'Brien y Holmes, 1987).

Síndrome Urémico Hemolítico

Es una entidad clínica definida por anemia hemolítica no inmune, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda; en la que las lesiones subyacentes están mediadas por un proceso sistémico de microangiopatía trombótica (Gianantonio *et al.*, 1964; Flores, 1980; Novillo *et al.*, 1988; Flores y Herrera, 2005).

La letalidad en la etapa aguda es de 2.5 a 4%. Del total de niños afectados, el 55% se curan, el 5% no recupera la función renal normal, presentando distintos grados de proteinuria e hipertensión arterial, y el 35% restante evoluciona a la cronicidad después de intervalos variables de tiempo (Trompeter y Schwartz, 1983; Nataro y Kaper, 1998).

2.3 *Salmonella*

El género *Salmonella* pertenece a la tribu *Salmonelleae*, de la familia Enterobacteriaceae. Los miembros del género *Salmonella* son bacilos Gram negativos, generalmente móviles por flagelos peritricos (excepto *S. Gallinarum*),

son anaerobios facultativos, no esporulados. Su identificación es en base a sus características bioquímicas () (Figueroa y Verdugo, 2005; Caffer *et al.*, 2008).

La clasificación del género *Salmonella* es muy compleja, su nomenclatura y taxonomía se ha modificado en varias ocasiones aunque aún se usan métodos descritos por Ewing y Philip (1986).

Minor y Popoff (1987) propusieron que el género *Salmonella* estaba únicamente representado por la especie *Salmonella enterica*. Calva (2007) coincide e indica que *S. bongori* se ubica dentro de las subespecies de *S. enterica*.

Tindall *et al.* (2005) refutan lo indicado por Minor y Popoff proponiendo que el género *Salmonella* está constituido por dos especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. Donde *Salmonella enterica* está compuesta por seis subespecies: *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* e *indica* (Fukushima *et al.*, 2002; Tindall *et al.*, 2005; Caffer *et al.*, 2008).

A su vez las subespecies se dividen en más de 2400 serovariedades, organizadas de acuerdo al esquema de Kauffmann-White (1966) y se definen en función de las asociaciones de los factores antigénicos somáticos O y flagelares H.

La mayoría de las serovariedades aisladas del hombre y animales de sangre caliente pertenecen a la subespecie *enterica* (subespecie I) (Calva, 2007).

Dado que las serovariedades no tienen nivel taxonómico de especie, sus nombres, escapan al dominio del Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana, por ejemplo *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serovariedad Typhimurium para términos prácticos pasa a simplemente *Salmonella* Typhimurium sin utilizar letra cursiva (Caffer *et al.*, 2008).

Los miembros del género se pueden clasificar en tres grupos:

- Los que infectan sólo al hombre: *Salmonella* Typhi, *S. Paratyphi* A y *S. Paratyphi* C.

- Los que infectan a un huésped animal: *S. Abortusovis*, a los ovinos; *S. Abortusequi*, a los equinos y *S. Gallinarum*, a las aves.
- Los que no tienen preferencia por algún huésped. En este grupo se encuentran la mayoría de las serovariedades responsables de las salmonelosis.

2.3.1 Patogénesis de *Salmonella*

La adherencia es uno de los factores más importantes en la patogénesis del género *Salmonella*, esta se lleva a cabo por la producción de varios tipos de adhesinas. La adhesina de esta bacteria tiene la capacidad de activar a los linfocitos B y neutrófilos lo que producen proliferación celular y secreción de citosinas (Parra *et al.*, 2002; Figueroa *et al.* 2005).

La interacción de un patógeno con una célula hospedera usualmente provoca la activación de caminos de señalización de la célula hospedera, ya sea de manera directa por componentes bacterianos o por estimulación de factores activadores del hospedero, como las citosinas inflamatorias. Tales activaciones pueden alterar la superficie de la célula hospedera, proveyendo así al patógeno con receptores de adhesinas alternos (Parra *et al.*, 2002; Figueroa *et al.* 2005).

Salmonella expresa una amplia variedad de fimbrias con diferente especificidad de unión (Low *et al.*, 1996). Produce fimbrias codificadas por el plásmido pSLT que contiene el gen *pef* de 90 Kpb, este plásmido se encuentra en todas la cepas patógenas de la bacteria y su delección crea mutantes avirulentas. Fimbrias tipo 1, codificadas en el gen *fim*. Fimbrias polares largas codificadas por el gen *lpf*. Fimbrias agregativas delgadas codificadas por el gen *agf* (Salyers y Whitt, 2002; Zhang *et al.*, 2003).

Además de los factores de adherencia *Salmonella* cuenta con cinco islas de patogenicidad (SPI) (Figueroa *et al.*, 2005).

SPI-1, codifica un sistema de secreción tipo III. Los genes *inv*, *spa*, *prg* y *org* se encargan de formar las proteínas necesarias para los rearrreglos del

citoesqueleto: SipA, SopE, SopE2 y SopB (García *et al.*, 1993; Finlay y Cossart, 1997; Galán, 1996).

El sistema de secreción tipo III (SST), son un grupo de organelos especializados de las bacterias Gram negativas, cuya finalidad es introducir al citosol proteínas efectoras que desequilibran la función celular de las eucariotas (Hueck, 1998).

SipA es una proteína de unión a actina, que inhibe la despolimerización de F-actina y activa T-plasmina, su chaperona es SicA y SipE en *S. Typhi* (Watson *et al.* 1998; Galán y Collmer, 1999).

SopE se comporta como GEF (guanine exchange factor) en las proteínas RhoGTPasas: CDC42 y Rac induciendo *ruffling* de la membrana, que permite la internación de *Salmonella* además estimula la MAP cinasas (Mitogen-activated protein), Erk (extracellular signal-regulated kinase), JNK (quinasa terminal) y p38. Es codificada por un fago temperado defectuoso de la familia P2, localizado en el centisoma 60 del cromosoma de *Salmonella* (Hardt *et al.*, 1998; Fu y Galán y Collmer, 1999).

La proteína SopE2 activa a CDC42 que permite activar al complejo Arp2/3. Este complejo inicia la polimerización de actina y ramifica filamentos de actina. El gen responsable de codificar dicha proteína se encuentra localizado en el centisoma 40-42. SopB (*Salmonella* outer protein), como se conoce para *S. Dublin*, o SigD (*Salmonella* invasion genes) para *S. Typhimurium*, por su actividad de inositol fosfato fosfatasa, también reorganiza el citoesqueleto de actina (Bakshi *et al.*, 2000; Stender *et al.*, 2000; Miold *et al.*, 2001; Figueroa *et al.*, 2005)

La proteína SptP (*Salmonella* protein tirosin phosphatase) es una tirosin fosfatasa, que se comporta como GAP (GTPase activating protein), es decir, cambia Rac•GTP a Rac•GDP, con lo que evita el *ruffling* estimulado por SopE además antagoniza la activación de JNK; su porción amino-terminal comparte secuencias similares con YopE, en su porción carboxiterminal es semejante a YopH así como al dominio catalítico de algunas tirosin fosfatasas de células eucarióticas (Kaniga *et al.*, 1996; Fu y Galán, 1999).

Salmonella produce efectos citotóxicos que produce la destrucción de las células M y la invasión de enterocitos adyacentes, induce apoptosis de macrófagos activados mediante la proteína efectora SipB (*Salmonella* invasion protein) y fagocitosis inducida en macrófagos no activados, para poder transportarse a hígado y bazo (Hersh *et al.*, 1999; Monack *et al.*, 2000).

La SPI-2 contiene genes que están envueltos en la fase sistémica de la enfermedad. También codifica para un SSTIII que se activa cuando la bacteria se encuentra intracelularmente dentro de una vacuola. Se localiza en el centisoma 31, situada inmediatamente adyacente al gen tARN valV, su tamaño es de 40 kb. Consta de 32 genes que regulan la supervivencia y replicación bacteriana en los compartimentos intracelulares de fagocitos y células epiteliales (Valvidia y Falkow, 1997; Parra *et al.*, 2002).

Las funciones moleculares de la SPI-2 no han sido caracterizadas con tanto detalle como las de la SPI-1. Las mutantes en dicha isla son severamente atenuadas en la infección sistémica al ser inoculadas oral o intraperitonealmente (Parra *et al.*, 2002; Figueroa *et al.*, 2005).

SPI-3 produce un transportador de alta afinidad de Mg, importante para la supervivencia bacteriana dentro del fagosoma, provee productos esenciales para el crecimiento en condiciones limitadas de Mg²⁺. Su tamaño es de 17 kb. Está localizada en el centisoma 82 inmediatamente adyacente al gen tARN se/C. Está controlada transcripcionalmente por PhoP/PhoQ. Alberga 10 ORF (Open Reading Frame) organizados en 6 unidades transcripcionales, incluye al operón mgtCB que codifica la proteína MgtC (intramacrophage survival protein) y el transportador de Mg²⁺ de alta afinidad MgtB (Groisman y Ochman, 2000; Parra *et al.*, 2002).

La SPI-4 codifica un supuesto SSTI que media la secreción de toxinas y se cree que participa en la adaptación de *Salmonella* al ambiente intracelular en los macrófagos, es de 27 kb y está compuesta por 18 genes localizados en el centisoma 92 (Figueroa *et al.*, 2005; Caffer *et al.*, 2008).

SPI-5 es de 7.5 kb se encuentra localizada en el gen tARN *serT*, centisoma 20. Codifica proteínas efectoras involucradas en la secreción fluida y reacción inflamatoria en la mucosa intestinal, como SopB (SigD) que además de estimular la secreción de cloro, se encuentra involucrada en el flujo de macrófagos, para su secreción utiliza el SSTIII de la SPI-1 (DeVinney *et al.*, 2000).

Después de la ingestión de agua o alimento contaminado, *Salmonella* inicia su ciclo de infección. La infección de *Salmonella* se produce en el intestino delgado y en parte del colon cercana al recto. Invade tejido linfoide adhiriéndose apicalmente a las células epiteliales del íleon y a las células M (Zhang-Barber *et al.*, 1999; Parra *et al.*, 2002).

La infección de las células eucariotas se realiza por un mecanismo llamado *trigger*. *Salmonella* envía señales a las células epiteliales que inducen re arreglo del citoesqueleto de actina, formando ondulamiento (*ruffling*) que forman unos pseudópodos que embeben a la bacteria y la internan (Salyers y Whitt, 2002; Figueroa *et al.*, 2005).

La presencia de diarrea durante la infección no es causada por una enterotoxina; sin embargo, puede ser debido a la falla en el metabolismo celular causada por la acción del SSTIII. Como consecuencia de esta irrupción en el metabolismo, las células infectadas producen citoquinas que atraen neutrófilos polimorfo nucleares (PMN), estos liberan prostaglandinas que tiene acción en el metabolismo de la adenilato ciclasa, incrementando los niveles de adenosina monofosfato (AMP) que tiene como consecuencia final, la interrupción de la absorción de Na^+ y el aumento de la secreción de Cl^- , lo que lleva a una pérdida de agua por parte de la célula, signos claros de una diarrea (Brock y Madigan, 1991; Salyers y Whitt, 2002).

2.3.2 Salmonelosis

Es una de las enfermedades alimentarias más comunes causada por alimentos y agua contaminada. Se le considera una zoonosis de distribución mundial. La morbilidad de la salmonelosis es elevada, aunque la mortalidad es baja. Tiene un

período de incubación de 6 a 72 h, generalmente entre 12 a 36 h y la gastroenteritis persiste de 24 a 72 h. La dosis infectiva es de 10^4 a 10^6 UFC g⁻¹ (Vargas *et al.*, 2004).

Las causas más frecuentes de infección son los alimentos contaminados de origen o por manipulación de un portador, también de persona a persona (Calva, 2007).

La infección por alimentos contaminados incluye el huevo y sus productos; carne y sus derivados; leche cruda y productos lácteos; agua contaminada; aves de corral y frutas, jugos y hortalizas. Otra fuente de contaminación son las mascotas (reptiles y aves) y los productos farmacéuticos de origen animal no esterilizados (polvo de tiroides, hormonas pancreáticas, sustancias corticoadrenales, etc.). La tasa de incidencia de la infección es mayor en los lactantes y menores de cinco años (Caffer y Terragno, 2001; Calva, 2007).

La salmonelosis humana puede dividirse en dos síndromes:

- 1) La gastroenteritis o envenenamiento por alimentos o salmonelosis no tifoidea. No es acompañada de una infección sistémica. Las cepas más comunes son *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*.
- 2) La fiebre entérica, que incluye la fiebre tifoidea y la fiebre paratifoidea. Implica una infección sistémica, debido a la invasión de la bacteria. Es causada por *S. Typhi* y *S. Paratyphi* A, B o C.

La salmonelosis típicamente producen manifestaciones clínicas como gastroenteritis aguda (que va desde diarrea leve a diarrea fulminante, náuseas y vómitos), bacteriemia o septicemia (accesos de fiebre alta con hemocultivos positivos), fiebre tifoidea o paratifoidea (fiebre continua con o sin diarrea) y la condición de portadoras de personas infectadas anteriormente (Caffer *et al.*, 2008).

Puede también ocurrir una invasión sistémica sin gastroenteritis, principalmente en individuos inmunocomprometidos, como en el caso de las infecciones intra

hospitalarias. La fiebre tifoidea, puede establecer la condición de portador asintomático (Caffer y Terragno, 2001; Calva 2007).

Las infecciones por serotipos no tifoideos se asocian principalmente con el contacto entre personas, el consumo de diversos alimentos contaminados y la exposición a animales. La infección por especies tifoideas se asocia con el consumo de agua o alimentos contaminados, siendo poco frecuente la transmisión directa entre personas (Parra *et al.*, 2002; Calva, 2007; Caffer *et al.*, 2008).

2.4 Detección y aislamiento

Para detectar un riesgo de infección potencial para el consumidor es necesario el monitoreo microbiológico rutinario de los alimentos (Gansheroff y O'Brien, 2000).

La detección de microorganismos en alimentos se debe realizar con la metodología adecuada de acuerdo con el tipo de microorganismo y las características del alimento, ya que esto puede interferir en los ensayos de detección (Rivas *et al.*, 2008).

Los métodos más utilizados para el análisis microbiológico de alimentos se basan en el concepto de tamiz, este consiste en homogeneizar la muestra y realizar un enriquecimiento selectivo, después tamizar, los positivos deben ser aislados por métodos inmunológicos o con medios selectivos y diferenciales (Feng, 2001; Leotta, 2009).

Se debe considerar que a pesar de obtener resultados positivos en las pruebas basadas en tamiz (enzimunoensayos, inmunocromatografía, PCR, etc.) en ocasiones resulta imposible recuperar el aislamiento positivo en un medio de cultivo. Esto se debe a que en ocasiones la bacteria se encuentra en cantidad ínfima, está dañada o muerta y lo que detectó la prueba fueron sus enzimas o secuencias de ADN (Rivas *et al.*, 2008).

Los métodos tradicionales de laboratorio, para detección de agentes patógenos, no son lo suficientemente sensibles, principalmente por el gran

número de microorganismos saprofitos que contiene el alimento, la población del patógeno es baja o se distribuyen heterogéneamente en el alimento (Gallardo *et al.*, 2006).

2.4.1 ELISA

Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas, acrónimo del inglés Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, es una técnica en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable como cambio de color (Xiao-Hong *et al.*, 2006).

Se han desarrollado múltiples variantes de ensayos ELISA:

ELISA directo, simple de dos capas. Las placas ELISA se preparan recubriendo los pocillos con las soluciones en las que se sospecha se encuentra el antígeno. Se incuban con anticuerpos marcados con una enzima. El cambio de color indica la presencia del antígeno en la solución analizada. Es necesario incluir controles positivos y negativos (Jin *et al.*, 2012).

ELISA indirecto. Las placas ELISA se preparan de la misma forma que el directo. Los controles positivos y negativos son los mismos. El sistema de detección emplea dos anticuerpos: uno primario contra el antígeno y uno secundario marcado contra el primario. La detección tiene mayor sensibilidad por presentar una amplificación de señal debida a la unión de dos o más anticuerpos secundarios por cada primario (Elder *et al.*, 2000).

ELISA emparejado. Es un ensayo de captura de antígeno y detección mediante inmunocomplejos. Se recubre el pocillo con un primer anticuerpo antiantígeno. Después de lavar el exceso de anticuerpo se aplica la muestra problema en la que se encuentra el antígeno, que será retenido en el pocillo al ser reconocido por el primer anticuerpo. Después de un segundo lavado que elimina el material no retenido se aplica una solución con un segundo anticuerpo anti-antígeno marcado con una enzima. Entonces cada molécula de antígeno estará unida a un anticuerpo en la base que lo retiene y un segundo anticuerpo, lo marca. Este

ensayo tiene una gran especificidad y sensibilidad debido a la amplificación de señal que permite el segundo anticuerpo (Elder *et al.*, 2000; Suits *et al.*, 2005)

2.5 Normatividad y especificaciones sanitarias para carne

En muchos países la inocuidad es responsabilidad de la Secretaria de Agricultura para productos frescos y de la Secretaria de Salud para productos procesados. También actúa la Secretaria de Economía, usualmente a través del Consejo de Ciencia y Tecnología, para la generación, difusión e implementación de la normativa. Cada una de estas entidades tiene mandatos específicos, de manera que lo importante es definir la función que debe asumir cada institución para que no ocurra una duplicidad de funciones. Lo esencial es que exista fuerte coordinación pública privada y buena vinculación entre los actores de las cadenas: productores, procesadores, distribuidores, almacenadores, hasta llegar al consumidor (SE, 2008)

2.5.1 Normas Oficiales Mexicanas para carne

Tienen por objeto establecer las especificaciones sanitarias que deben cumplir todos los actores de la cadena productiva, así como el producto mismo.

Las NOM son de observancia obligatoria para las personas físicas o morales que se dedican al sacrificio, faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio de sus productos.

Con base en lo indicado en la NOM-004-ZOO-1993 para carne no procesada, indica, que los productos de importación deben elaborarse con carne de animales autorizados para consumo humano. No deben rebasarse los límites de sustancias tóxicas o nocivas, antibióticos, residuos de medicamentos y plaguicidas. El control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovinos, equinos, porcinos y ovinos. En etiquetas debe figurar: La leyenda: "Consérvese en refrigeración" y la fecha de caducidad (Hernández, 2009).

Las NOM consideradas para delimitar los niveles de sanidad microbiológica en el presente trabajo de investigación son las siguientes:

Norma Oficial Mexicana NOM-034-SSA1-1993. Bienes y servicios. Productos de la carne. Carne molida y carne molida moldeada. Envasadas. Especificaciones sanitarias (Cuadro 1).

Cuadro 1. NOM-034-SSA1-1993, Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos para carne molida.

Microorganismo	Límite máximo (UFC g ⁻¹)	Log ₁₀ (UFC g ⁻¹)
Mesofílicos aerobios	5,000,000	6. 70
<i>Staphylococcus aureus</i>	1000	3
<i>Salmonella spp</i>	Negativo en 30 g	-

UFC g⁻¹ = Unidad Formadora de Colonia por gramo

^a = No debe estar presente en ninguno de los cultivos.

Norma Oficial Mexicana NOM-122-SSA1-1994. Bienes y servicios. Productos de la carne. Productos cárnicos curados y cocidos, y curados emulsionados y cocidos. Especificaciones sanitarias (Cuadro 2).

Cuadro 2. NOM-122-SSA1-1994. Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos

Microorganismo	Límite máximo (UFC g ⁻¹)	Log ₁₀ (UFC g ⁻¹)
Mesofílicos aerobios	100,000	5
<i>Escherichia coli</i>	Negativo ^a	-
Hongos y levaduras	< 10	< 1
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	2
<i>Salmonella spp</i>	Negativo en 25 g	-

UFC g⁻¹ = Unidad Formadora de Colonia por gramo

^a = No debe estar presente en ninguno de los cultivos.

Norma Oficial Mexicana NOM-145-SSA1-1995. Productos cárnicos troceados y curados. Productos cárnicos curados y madurados. Disposiciones y especificaciones sanitarias (Cuadro 3).

Cuadro 3. NOM-145-SSA1-1995. Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos.

En planta:	Productos Cárnicos troceados y curados			
	curados			
ESPECIFICACIONES: (Límite máximo)	madurados	cocidos	crudos	madurados
Mesofílicos aerobios UFC g ⁻¹	NI	100,000	NI	NI
Coliformes fecales NMP g ⁻¹	< 3	< 3	NI	< 3
Salmonella spp en 25 g muestra	ausente	ausente	ausente	ausente
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC g ⁻¹	< 100	< 100	< 100	< 100

NI = No Indicado

En punto de venta:	Productos Cárnicos troceados y curados			
	curados			
ESPECIFICACIONES: (Límite máximo)	madurados	cocidos	crudos	madurados
Mesofílicos aerobios UFC g ⁻¹	NI	600,000	NI	NI
Coliformes fecales NMP g ⁻¹	< 3	< 3	NI	< 3
Salmonella spp en 25 g muestra	ausente	ausente	ausente	ausente
<i>Staphylococcus aureus</i> UFC g ⁻¹	< 1000	< 1000	< 1000	< 1000

NI = No Indicado

Norma Oficial Mexicana NOM-194-SSA1-2004. Productos y servicios. Especificaciones sanitarias en los establecimientos dedicados al sacrificio y faenado de animales para abasto, almacenamiento, transporte y expendio. Especificaciones sanitarias de productos (Cuadro 4).

Cuadro 4. NOM-194-SSA1-2004. Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos (mamíferos y aves domésticas).

Producto	<i>E. coli</i> ^a UFC g ⁻¹ Límite máximo	Salmonella en 25 g
Congelado	NA	Ausente
Refrigerado	1000	Ausente
Carne molida refrigerada	5000	Ausente
Envasado al vacío o en atmósfera modificada	NA	Ausente

^a = Como microorganismo indicador

NA = No Aplica

Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2002. Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba, límites máximos para microorganismos y parásitos (Cuadro 5).

Cuadro 5. NOM-213-SSA1-2002. Especificaciones sanitarias, límite máximo de microorganismos

Producto	Mesófilos aerobios (UFC g ⁻¹)	Coliformes fecales (NMP g ⁻¹)	<i>Salmonella</i> spp en 25 g	<i>Trichinella spiralis</i>	Cisticercos
Cocidos	10,000 ¹ 60,000 ²	< 3	Ausente	NA	NA
Crudos	NA	NA	Ausente	Ausente ³	NA
Curados	NA	< 3	Ausente	NA	NA
Marinados o en salmuera	NA	< 3	Ausente	NA	NA
Fritos	NA	NA	NA	NA	Ausente

1 = en planta

2 = en punto de venta

3 = no aplica a madurados crudos

NA = No aplica

2.5.2 Certificación México calidad suprema

México Calidad Suprema es una marca registrada por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, la Secretaria de Economía, y el Banco Nacional de Comercio Exterior, ante el Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI), y está protegida por la Ley de la Propiedad Industrial. El objetivo es garantizar la calidad superior de los productos agroalimentarios en cuanto a sus cualidades, propiedades y naturaleza, además de identificarlos y diferenciarlos como productos que cumplen con Normas Oficiales Mexicanas y Normas Internacionales de inocuidad, sanidad y calidad agroalimentaria confiable y transparente.

Este programa tiene cinco componentes para garantizar la calidad superior de los productos portadores del sello:

- 1) Marca Oficial "México Calidad Suprema".
- 2) Pliego de Condiciones que establece los parámetros mínimos a cumplir para hacer uso de la marca, lo que permite contar con reglas claras y perfectamente definidas sobre su uso. El pliego de condiciones contiene las Normas Oficiales Mexicanas, las Normas Mexicanas, las normas internacionales, planes de trabajo, BPA, BPM, especificaciones técnicas, rastreabilidad del producto, y exigencias de los mercados internacionales (inocuidad, EurepGAP, Ley de Bioterrorismo de USA).

- 3) Certificación de Tercera Parte e Independiente realizada por organismos de certificación imparciales e independientes, que facilitan de manera objetiva y especializada la conformidad del producto.
- 4) Promoción Comercial Nacional e Internacional.
- 5) Controles que son el conjunto de medidas preventivas y correctivas que fomentan el cumplimiento del esquema de certificación de la calidad.

El sello de la marca México Calidad Suprema implica el cumplimiento del pliego de condiciones certificado por un organismo acreditado y reconocido a nivel nacional e internacional, la licencia de uso del sello, su uso solo en el producto autorizado, y las sanciones y medidas correctivas por el mal uso del mismo.

El pliego de condiciones para carne bovina especifica las condiciones del proceso de cría, finalización, alimentación, sanidad, transporte, sacrificio, corte, deshuese, empaque, comercialización, rastreabilidad y etiquetado.

2.5.3 Normatividad Internacional

Unión Europea.

Uno de los objetivos fundamentales de la legislación alimentaria es asegurar un nivel elevado de protección de la salud pública, según se establece en el Reglamento (CE) no. 178/2002 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 28 de enero de 2002, por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria. El Reglamento (CE) No. 178/2002 establece requisitos generales de seguridad alimentaria, en virtud de los cuales no se comercializarán alimentos que no sean seguros. Las empresas alimentarias exportadoras tienen la obligación de retirar del mercado los alimentos que no sean seguros. Para contribuir a la protección de la salud pública y evitar las diferencias de interpretación, es necesario establecer criterios de seguridad armonizados sobre la aceptabilidad de los alimentos, en particular en lo que se refiere a la presencia de ciertos microorganismos patógenos (Hernández, 2009).

En base a lo anterior se establecen los límites microbiológicos establecidos para la comercialización de productos cárnicos en la UE (Cuadro 6 y Cuadro 7).

Cuadro 6. Criterios de seguridad alimentaria, carne y productos derivados.

No.	Categoría de alimentos	Moos / toxinas, metabolitos	Muestras ^a	Límite ^b	Método analítico de referencia ^c	Fase en la que se aplica el criterio
1.4	Carne picada y preparados de carne destinados a ser consumidos crudos	<i>Salmonella</i>	5	0	Ausencia en 25 g	EN/ISO 6579 Productos comercializados durante su vida útil
1.5	Carne picada y preparados de carne a base de carne de aves de corral destinados a ser consumidos cocinados	<i>Salmonella</i>	5	0	Desde el 1.1.2006 Ausencia en 10 g Desde el 1.1.2010 Ausencia en 25 g	EN/ISO 6579 Productos comercializados durante su vida útil
1.6	Carne picada y preparados de carne a base de especies distintas a las aves de corral destinados a ser consumidos cocinados	<i>Salmonella</i>	5	0	Ausencia en 10 g	EN/ISO 6579 Productos comercializados durante su vida útil
1.7	Carne separada mecánicamente (CSM) [9]	<i>Salmonella</i>	5	0	Ausencia en 10 g	EN/ISO 6579 Productos comercializados durante su vida útil
1.8	Productos cárnicos destinados a ser consumidos crudos, excluidos los productos en los que el proceso de fabricación o la composición del producto elimine el riesgo de <i>Salmonella</i>	<i>Salmonella</i>	5	0	Ausencia en 25 g	EN/ISO 6579 Productos comercializados durante su vida útil
1.9	Productos cárnicos hechos a base de carne de aves de corral, destinados a ser consumidos cocinados	<i>Salmonella</i>	5	0	Desde el 1.1. 2006 Ausencia en 10 g Desde el 1.1. 2010 Ausencia en 25 g	EN/ISO 6579 Productos comercializados durante su vida útil

^a n = número de unidades que componen la muestra; c = número de unidades de muestreo con valores superiores a m o comprendidos entre m y M.

^b Para los criterios comprendidos entre los puntos 1.1 y 1.24, ambos inclusive, se entenderá que m=M.

^c Se utilizará la última versión de la norma.

5. Este criterio se aplica si el fabricante puede demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 UFC g⁻¹ durante su vida útil. El explotador podrá fijar límites intermedios durante el proceso que deberían ser lo suficientemente bajos para garantizar que no se supere el límite de 100 UFC g⁻¹ al final de la vida útil.

Cuadro 7. Criterios de higiene de los procesos, (carne y productos derivados).

No.	Categoría de alimentos	Mohos	Toma de muestra ^a	Límite ^b	Método analítico de referencia ^c	Fase en la que se aplica el criterio	Acción en caso de resultados insatisfactorios
2.1.6	Carne picada	Recuento de colonias aerobias ^d	5	2	5x10 ⁵ UFC g ⁻¹ , 5x10 ⁶ UFC g ⁻¹	ISO 4833 Final del proceso de fabricación	Mejoras en la higiene de la producción y mejoras en la selección y/o el origen de las materias primas
		<i>E. coli</i> ^e	5	2	50 UFC g ⁻¹ 500 UFC g ⁻¹	ISO 16649-1 o 2 Final del proceso de fabricación	Mejoras en la higiene de la producción y mejoras en la selección y/o el origen de las materias primas
2.1.7	Carne separada mecánicamente (CSM). ^f	Recuento de colonias aerobias	5	2	5x10 ⁵ UFC g ⁻¹ 5x10 ⁶ UFC g ⁻¹	Final del proceso de fabricación	Mejoras en la higiene de la producción y mejoras en la selección y/o el origen de las materias primas
		<i>E. coli</i> ^e	5	2	50 UFC g ⁻¹ 500 UFC g ⁻¹	ISO 16649-1 o 2 Final del proceso de fabricación	Mejoras en la higiene de la producción y mejoras en la selección y/o el origen de las materias primas
2.1.8	Preparados de carne	<i>E. coli</i> ^e	5	2	500 UFC g ⁻¹ o 5000 UFC g ⁻¹ o cm ²	Final del proceso de fabricación	Mejoras en la higiene de la producción y mejoras en la selección y/o el origen de las materias primas

^a n = número de unidades que componen la muestra; c = número de unidades de muestreo que dan valores entre m y M.

^b Para los criterios comprendidos entre los puntos 2.1.3 y 2.1.5, se entenderá que m=M.

^c Se utilizará la última versión de la norma.

^d Este criterio no se aplica a la carne picada producida al por menor cuando la vida útil del producto es inferior a 24 horas.

^e La *E. coli* se utiliza en este caso como indicador de contaminación fecal.

^f Estos criterios se aplican a la carne separada mecánicamente producida con las técnicas contempladas en el anexo III, sección V, capítulo III, apartado 3, del Reglamento (CE) no 853/2004 por el que se establecen normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal.

5. Este criterio se aplica si el fabricante puede demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 UFC g⁻¹ durante su vida útil. El explotador podrá fijar límites intermedios durante el proceso que deberían ser lo suficientemente bajos para garantizar que no se supere el límite de 100 UFC g⁻¹ al final de la vida útil.

2.6 Literatura citada

- Arispe, I., y M. Tapia. 2007. Inocuidad y Calidad: Requisitos indispensables para la protección de la salud de los consumidores. *Agroalimentaria* 24 (1): 105-117.
- Avendaño, B., R. S. Rindermann, S. Y. Lugo, y A. Mungaray. 2006. Las hortalizas frescas de exportación. Porrúa. Baja California, México. 189 p.
- Bakshi, C. S., V. P. Singh, M. W. Wood, P. W. Jones, T. S. Wallis, and E. E. Galyov. 2000. Identification of SopE2, a *Salmonella* secreted protein which is highly homologous to SopE and involved in bacterial invasion of epithelial cells. *Journal of Bacteriology* 182: 2341-2344.
- Barreto, G. 2010. Agentes bacterianos asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en Camagüey, Cuba, durante el período 2000-2008. *Revista Electrónica de Veterinaria* 11 (2): 1-16.
- Blanco, M., J. E. Blanco, J. Blanco, E. González, M. Alonso, H. Maasm, and W. Jansen. 1995. Prevalence and characteristics of human and bovine verotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated in Galicia. *European Journal of Epidemiology* 12 (1): 13-19.
- Bono, J. L., T. P. L. Smith, J. E. Keen, G. P. Harhay, T. G. McDanel, R. E. Mandrell, and W. Kyung. 2012. Phylogeny of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 isolated from cattle and clinically ill humans. *Molecular Biology and Evolution* 29 (8): 2047-2062.
- Brock, T., y M. Madigan. 1991. Microbiología. 6a. ed. Prentice Hall. Naucalpan de Juárez, México. pp: 287-290.
- Caffer, M., R. Terragno, y N. Binsztein. 2008. Manual de Procedimientos. Diagnóstico y caracterización de *Salmonella* spp. 2a. ed. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. WHO. Buenos Aires, Argentina. 76 p.
- Caffer, M., y R. Terragno. 2001. Manual de procedimientos para la caracterización de *Salmonella*. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas. Buenos Aires, Argentina. 76 p.
- Calva, E. 2007. *Salmonella typhi* y la fiebre tifoidea: de la Biología Molecular a la salud pública. UNAM. México. pp: 1-11.
- CFIA (Canadian Food Inspection Agency). 2009. *E. coli* O157:H7 Food Safety Facts. CFIA. Canada. 4 p.

- Codex Alimentarius. 2003. Food hygiene basic texts recommended international code of practice. General principles of food hygiene. CA/RCP 1-1969, rev. 4 2003. CDC. Roma, Italy. pp: 1-31.
- Cravioto, A., V. Vázquez, A. Soria, A. Navarro, y M. Ortiz. 1988. Producción de citotoxina tipo Shiga (SLT)1 en cepas de *Escherichia coli* aisladas de niños con diarrea en una comunidad rural. Boletín médico del Hospital Infantil de México 45: 206-210.
- DeVinney R., O. Steele-Mortimer, and B. B. Finlay. 2000. Phosphatases and kinases delivered to the host cell by bacterial pathogens. Trends in Microbiology. 8: 29-33.
- Donnenberg, M. S., S. Tzipori, M. L. McKee, A. D. O'Brien, J. Alroy, and J. B. Kaper. 1993. The role of the *eae* gene of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in intimate attachment in vitro and in a porcine model. The Journal of Clinical Investigation 92 (3): 1418–24.
- Elder, R. O., J. E. Keen, G. R. Siragusa, G. A. Barkocy-Gallagher, M. Koohmaraie, and W. W. Laegreid. 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.
- Eslava, C., J. Mateo, y A. Cravioto. 1994. Cepas de *Escherichia coli* relacionadas con la diarrea. In: Diagnóstico de laboratorio de infecciones gastrointestinales. Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. México. pp: 251-265.
- Essers, S. 2005. Inocuidad de alimentos y seguridad alimentaria. Segundo curso de Postgrado de SA y Pobreza, Guatemala. Universidad de Wageningen. Países Bajos. 32 p.
- Ewing, W. H., and R. Philip. 1986. Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. 4th. ed. Elsevier Science Publishing. New York. 536 p.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2002. Manual de capacitación sobre higiene de los alimentos y sobre el Sistema de Análisis de Peligros y de Puntos Críticos de Control (APPCC). Dirección de Información de la FAO. Roma, Italia. 248 p.
- FAO/OMS (Food and Agriculture Organization of the United Nations /Organización Mundial de la Salud). 2006. Conferencia Regional FAO/OMS sobre inocuidad de alimentos para las Américas y el Caribe. FAO. Roma, Italia. 126 p.

- Farmer, J. J. 1995. Enterobacteriaceae: Introduction and identification. *In*: Manual of Clinical Microbiology. ASM Press. 6th. ed. Washington, D. C. 440 p.
- FDA (U. S. Food and Drug Administration). 1999. The problem of foodborne illness, Partnership for Food Safety Education. U. S. 35 p.
- Feng, P. 2001. Rapid methods for detecting foodborne pathogens. *In*: Bacteriological Analytical Manual. FDA. 8th. ed. U. S. 14 p.
- Ferens, W. A., and C. J. Hovde. 2011. *Escherichia coli* O157:H7: Animal reservoir and sources of human infection. Foodborne Pathogens and Disease 8 (4): 465-487.
- Fernández, F. J. 2001. Intoxicaciones y toxiinfecciones alimentarias. Unidad de Nutrición y Dietética Clínica. Hospital Universitario La Paz. Madrid. pp: 1-5.
- Field, M., M. C. Rao, and E. B. Chang. 1989. Intestinal electrolyte transport and diarrheal disease. The New England Journal of Medicine 321: 800-6.
- Figueroa, I. M., y A. Verdugo. 2005. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. Revista Latinoamericana de Microbiología 47 (1): 25–42.
- Finlay, B. B., and P. Cossart. 1997. Exploitation of mammalian host cell functions by bacterial pathogens. Science. 276: 718-725.
- Flores, J. 1980. Fisiología del transporte intestinal. GEN 36 (1): 13-16.
- Flores, T., y R. Herrera. 2005. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. Salud Pública de México, 47 (5), 388-390.
- Frankel, G., A. Phillips, L. Trabulsi, S. Knutton, G. Dougan, and S. Matthews. 2001. Intimin and the host cell-is it bound to end in Tir(S). Trends in Microbiology. 9: 214-218.
- Fu, Y., and J. Galán. 1999. A *Salmonella* protein antagonizes Rac-1 and CDC42 to mediate host-cell recovery after bacterial invasion. Nature 401: 293-297.
- Fukushima, M., K. Kakinuma, and K. Ryuji. 2002. Phylogenetic analysis of *Salmonella*, *Shigella*, and *Escherichia coli* strains on the basis of the gyrB Gene sequence. Journal of Clinical Microbiology 40 (8): 2779–2785.
- Galán, J. 1996. Molecular genetic bases of *Salmonella* entry into host cells. Molecular Microbiology 20: 263-271.
- Galán, J., and A. Collmer. 1999. Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells. Science. 284: 1322-1328.

- Gallardo, M. E., N. Deza, W. R. Roibón, D. Pereyra, M. C. Benítez, R. O. Arzú, y S. I. Boehringer. 2006. Detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en reses bovinas y carne molida de Corrientes, Argentina. *Revista Veterinaria* 17 (1): 20-25.
- Gansheroff, L. J., and A. D. O'Brien. 2000. *Escherichia coli* O157:H7 in beef cattle presented for slaughter in the U. S.: Higher prevalence rates than previously estimated. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97 (7): 2959-61.
- García, F., M. B. Zwick, K. Y. Leung, and B. B. Finlay. 1993. *Salmonella* induces the formation of filamentous structure containing lysosomal membrane glycoproteins in epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90: 10544-10548.
- Garmendia, J., G. Frankel and V. Crepin. 2005. Enteropathogenic and enterohaemorrhagic *E. coli* infections: translocation. *Infection and Immunity* 73: 2573-2585.
- Garza R., J. 2010. La situación actual de las zoonosis más frecuentes en México. *Gaceta Médica de México* 146 (1): 430-436.
- Gautam, R., M. Kulow, D. Döpfer, C. Kaspar, T. Gonzales, K. M. Pertzborn, R. J. Carroll, W. Grant, and R. Ivanek. 2012. The strain-specific dynamics of *Escherichia coli* O157:H7 fecal shedding in cattle post inoculation. *Journal of Biological Dynamics* 6 (2): 1052-1066.
- Gianantonio C. A., M. Vitacco, F. Mendilaharsu, A. Rutty, and J. Mendilaharsu. 1964. The hemolytic uremic syndrome. *Journal of Pediatrics*. 4: 478-91.
- Goosney, D. L., R. DeVinney, and B. B. Finlay. 2001. Recruitment of cytoskeletal and signaling proteins to enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli* pedestals. *Infection and Immunity* 69 (5): 3315–3322.
- Groisman, E. A., and H. Ochman. 2000. The path to *Salmonella*. *Features*. 66: 21-27.
- Hardt, W. D., L. M. Chen, K. E. Schuebel, X. E. Bustelo, and J. E. Galán. 1998. *S. typhimurium* encodes an activator of Rho GTPases that induces membrane ruffling and nuclear responses in host cells. *Cell* 93: 815-826.
- Hartland, E. L., M. Batchelor, R. M. Delahay, C. Hale, S. Matthews, G. Dougan, S. Knutton, I. Connerton, and G. Frankel. 1999. Binding of intimin from enteropathogenic *Escherichia coli* to Tir and to host cells. *Molecular Microbiology* 32 (1): 151-8.

- Henríquez, P., y M. Lizano. 2008. Sistemas de aseguramiento de inocuidad y calidad de productos hortofrutícolas. IICA. El Salvador. pp: 11-17.
- Hernández, S. 2009. Sanidad microbiológica de dos tipos de carne orgánica (pavo y res), Tianguis Orgánico Chapingo. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. México. 88 p.
- Hersh, D., D. M. Monack, M. R. Smith, N. Ghorí, S. Falkow, and A. Zychlinsky. 1999. The *Salmonella* invasion SipB induces macrophages apoptosis by binding to caspase-1. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 96: 2396-2401.
- Hueck, C. 1998. Type III secretion system in bacterial pathogens of animal and plants. Microbiology and Molecular Biology Reviews 62: 379-433.
- Jenkins, C., G. A. Willshaw, J. Evans, T. Cheasty, H. Chart, D. J. Shaw, G. Dougan, G. Frankel, and H. R. Smith. 2003. Subtyping of virulence genes in verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) other than serogroup O157 associated with disease in the United Kingdom. Journal of Medical Microbiology 52: 941-7.
- Jin, M., J. Lang, S. Zhi-Qiang, C. Zhao-Li, Q. Zhi-Gang, W. Xin-Wei, and L. Jun-Wen. 2012. A rapid subtractive immunization method to prepare discriminatory monoclonal antibodies for food *E. coli* O157:H7 contamination. PLoS One 7 (2): e31352.
- Kaniga, K., J. Uralil, J. A. Bliska, and J. E. Galán. 1996. Secreted protein tyrosine phosphates with modular effectors domains in the bacterial pathogen *Salmonella*. Molecular Microbiology 21: 633-641.
- Karmali, M. A., B. T. Steele, M. Petric, and C. Lim. 1983. Sporadic cases of haemolytic uremic syndrome associated with fecal cytotoxin and cytotoxin producing *E. coli* in stools. The Lancet I: 619-620.
- Kauffmann-White, F. 1966. The Bacteriology of Enterobacteriaceae collected studies. Baltimore: Williams y Wilkins. 3th. ed. Wisconsin University, U. S. 400 p.
- Kobayashi, M., T. Sasaki, N. Saito, K. Tamura, K. Suzuki, H. Watanabe, and N. Agui. 1999. Houseflies: Not simple mechanical vectors of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 61 (4): 625-9.
- Konowalchuk, J., J. I. Speirs, and S. Stavric. 1977. Vero response to a cytotoxin of *Escherichia coli*. Infection and Immunity 18 (3): 775-779.

- Kopper, G., y G. Calderón. 2009. Enfermedades transmitidas por alimentos y su impacto socioeconómico. Informe Técnico sobre ingeniería agrícola y alimentaria. FAO. Roma, Italia. 194 p.
- Leotta, G. A. 2009. Métodos rápidos: una herramienta útil y práctica para el análisis microbiológico de los alimentos. *Revista Argentina de Microbiología* 41 (1): 63-64.
- Low, D., B. Braten, and M. Woude. 1996. *Escherichia coli* and *Salmonella*. In: Cellular and Molecular Biology. ASM Press. pp: 146-157.
- Marcos, L. A. and H. L. DuPont. 2007 Advances in defining etiology and new therapeutic approaches in acute diarrhea. *Journal of Infection* 55 (5): 385-93.
- Martínez, E., M. Varela, C. Cevallos, A. Torres, y P. Ordóñez. 2008. Brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. España, 2004-2007 (excluye brotes hídricos). *Boletín Epidemiológico Semanal* 16 (21): 241–248.
- Mattar, S., and E. Vásquez. 1998. *Escherichia coli* O157:H7 infection in Colombia. *Emerging Infectious Diseases* 4 (1): 126–127.
- Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. Mccaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe. 2009. Food-Related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* 5 (5): 607-624. 129-158.
- Miroid, S., K Ehrbar, and A. Weissmüller. 2001. *Salmonella* host cell invasion emerged by acquisition of a mosaic of separate genetic elements, including *Salmonella* Pathogenicity Island 1 (SPI1), SPI5, and sopE2. *Journal of Bacteriology* 183 (7): 2348-2358.
- Monack, D. M., D. Hersh, N. Ghori, D. Bouley, A. Zychlinsky, and S. Falkow. 2000. *Salmonella* exploits caspase-1 to colonize Peyer's patches in a murine typhoid model. *Journal of Experimental Medicine* 192: 249-258.
- Nataro, J. P., and J. B. Kaper. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology Reviews* 11 (1): 142–201.
- Navarro, A., C. Eslava, G. García, L. A. León, D. Licon, L. León, L. A. Zarco, and A. Cravioto. 2007. Common epitopes in LPS of different Enterobacteriaceae are associated with an immune response against *Escherichia coli* O157 in bovine serum samples. *Journal of Medical Microbiology* 56: 1447–54.
- Nedra, D., S. Miranda, E. G. Lizárraga, S. Kwiatkowski, S. Edgar, R. Eugenia, and C. Romo. 2012. The complex world of polysaccharides. Edited by Desiree Karunaratne. InTech. Rijeka, Croatia. 648 p.

- Novillo, A. A., L. E. Voyer, and R. Cravioto. 1988. Haemolytic Uraemic Syndrome associated with faecal cytotoxin and verotoxin neutralizing antibodies. *Pediatric Nephrology* 2 (1): 288–290.
- O’Brien, A. D., and R. K. Holmes. 1987. Shiga and Shiga-like toxins. *Clinical Microbiology Reviews* 51: 206-220.
- O’Brien, A. D., G. D. LaVeck, M. R. Thompson, and S. B. Formal. 1982. Production of *Shigella dysenteriae* Type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *The Journal of Infectious Diseases* 146 (6): 763-9.
- Ogura, Y., T. Ooka, A. Iguchi, H. Toh, M. Asadulghani, K. Oshima, and T. Kodama. 2009. Comparative Genomics reveal the mechanism of the parallel evolution of O157 and non-O157 enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106 (42): 17939-44.
- Olivet, J. 2008. Determinación de *Escherichia coli* y *Escherichia coli* O157:H7 en leches obtenidas artesanalmente y distribuidas en 15 lecherías de la cabecera departamental de Chiquimula. Tesis Profesional. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 50 p.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2012. Estadísticas sanitarias mundiales 2012. OMS. Ginebra, Suiza. 180 p.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 1999. Principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos para alimentos. (CAC/GL-21, (1977)). OMS. Ginebra, Suiza. pp: 61-74.
- Paniagua, G. L., E. Monroy, O. García-González, J. Alonso, E. Negrete, and S. Vaca. 2007. Two or more enteropathogens are associated with diarrhea in Mexican children. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials* 8 (1): 6–17.
- Parra, M., J. Durango, y S. Máttar. 2002. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *Revista MVZ Córdoba* 7 (2): 187-200.
- Powell, D. W., and C. C. Fan. 1984. Coupled NaCl transport, cotransport or parallel ion exchange? *In: Mechanisms of intestinal electrolyte transport and regulation by calcium*. Bethesda: Alan R. Liss Inc. New York, U. S. pp: 13-26.
- Rahal, E. A., N. Kazzi, F. J. Nassar, and G. M. Matar. 2012. *Escherichia coli* O157:H7 clinical aspects and novel treatment approaches. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2:138.

- Ratnam, S., S. B. March, R. Ahmed, and G. S. Bezanson. 1988. Characterization of *Escherichia coli* Serotype 0157:H7. *Journal of Clinical Microbiology* 26 (10): 2006-2012.
- Read, N. W. 1992. Secretory Diarrhea. Sandoz Pharma S. A. New Jersey, U. S. pp: 5-21.
- Riley, L. W., R. S. Remis, S. D. Helgerson, H. B. McGee, J. G. Wells, B. R. Davis, and R. J. Hebert. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *The New England Journal of Medicine* 308 (12): 681–5.
- Rivas, M., G. Leotta, y I. Chinen. 2008. Diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* O157 productor de toxina shiga a partir de alimentos. 2a. ed. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, WHO. Buenos Aires, Argentina. 156 p.
- Riverón, R. 1999. Fisiopatología de la diarrea aguda. *Revista Cubana Pediátrica* 71 (2): 86–115.
- Roberts, J. and D. Orden. 1999. A framework for analyzing technical trade barriers in agricultural markets. Technical Bulletin No. 1879. USDA. Washington, U. S. 44 p.
- Rodríguez-Ángeles, G. 2002. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud Pública de México* 44 (5): 464-475.
- Salyers, A. A., and D. D. Whitt. 2002. Diarrheagenic *Escherichia coli* strains. In: *Bacterial Pathogenesis. A molecular approach*. 2nd. ed. ASM Press. Washington, U. S. pp: 407-421.
- Schmidt, H., C. Geitz, P. I. Tarr, M. Frosch, and H. Karch. 1999. Non-O157:H7 pathogenic Shiga Toxin-producing *Escherichia coli*: Phenotypic and genetic profiling of virulence traits and evidence for clonality. *The Journal of Infectious Diseases* 179 (1): 115–23.
- Schmidt, H. T., L. Beutin, and H. Karch. 1995. Molecular analysis of the plasmid-encoded hemolysin of *Escherichia coli* O157:H7 strain EDL 933. *Infection and Immunity* 63 (3): 1055–1061.
- Schultz, S. G. 1980. Cellular models of sodium and chloride absorption by mammalian small and large intestine. In: *Secretory Diarrhea*, Baltimore: William and Wilkins. U. S. pp: 1-9.

- Schultz, S. G., and P. F. Curran. 1974. Sodium and chloride absorption transport across isolated rabbit ileum. *In: Current Topics in Membranes and Transport* Academic Press Inc, New York, U. S. pp: 225-281.
- SE (Secretaría de Economía). 2008. La industria de la carne en México. Boletín técnico. SE. México. 67 p.
- Stender S., A. Friebel, S. Linder, M. Rohde, S. Mirolid, and W. D. Hard. 2000. Identification of SopE2 from *S. typhimurium*, a conserved guanine nucleotide exchange factor for Cdc42 of the host cell. *Molecular Microbiology* 36: 1206-21.
- Suits, M. D. L., G. P. Pal, K. Nakatsu, A. Matte, M. Cygler, and Z. Jia. 2005. Identification of an *Escherichia coli* O157:H7 heme oxygenase with tandem functional repeats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (47): 16955–60.
- Tarr, P. I. 1995. *Escherichia coli* O157:H7 clinical, diagnostic and epidemiological aspects of human infection. *Clinical Infectious Diseases* 20: 1-10.
- Tindall, B. J., P. Grimont, G. M. Garrity, and J. P. Euzéby. 2005. Nomenclature and taxonomy of the genus *Salmonella*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 55 (1): 521-4.
- Todd, E. C. 1997. Epidemiology of foodborne diseases: a worldwide review. *World Health Stat Q* 50: 30–50.
- Trompeter, R. S., and R. Schwartz. 1983. Haemolytic-uraemic Syndrome: an analysis of prognostic features. *Archives of Disease in Childhood* 52: 101-105.
- USDA (U. S. Department of Agriculture). 2011. Parásitos y las enfermedades transmitidas por alimentos. *In: Información sobre inocuidad de alimentos*. USDA. EE. UU. 8 p.
- Valvidia, R. H., and S. Falkow. 1997. Fluorescence-based isolation of bacterial genes expressed within host cells. *Science* 277: 2007-2011.
- Vargas, J., N. Clavo, y S. Máttar. 2004. Detección de *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella spp.* en cerdos en el Departamento de Córdoba. *Revista MVZ Córdoba* 9 (1): 386-392.
- Watson, P., E. Galyov, S. M. Paulin, P. W. Jones, and T. S. Wallis. 1998. Mutation of invH, but not stn reduces *Salmonella*-induced enteritis in cattle. *Infection and Immunity* 66: 1432-1438.

- WHO (World Health Organization). 1999. Zoonotic non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC). WHO. Berlin, Germany. pp: 1–30.
- Xiao-Hong, W., Xu-Kang, Wang-Ying, X. Shi, and B. Xie. 2006. An indirect competitive ELISA method for quantitative analysis of Staphylococcal Enterotoxin B. Food Science 27 (8): 227-231.
- Zhang, S., R. A. Kingsley, R. L. Santos, H. Andrews-Polymenis, M. Raffatellu, J. Figueiredo, J. Nunes, R. M. Tsois, L. G. Adams, and A. J. Bäumlér. 2003. Molecular pathogenesis of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium induced diarrhea. Infection and Immunity. 71 (1): 1–12.
- Zhang-Barber, L., A. K. Turner, and P. A. Barrow. 1999. Vaccination for control of *Salmonella* in poultry. Vaccine 17: 2538-2545.

3 INCIDENCIA DE *Escherichia coli* O157 Y *Salmonella sp.* EN CARNE DE BOVINO COMERCIALIZADA EN TEXCOCO

3.1 Resumen

Escherichia coli O157 y *Salmonella sp.* son las principales bacterias patógenas que contaminan la carne bovina y representa un fuerte problema de salud pública. En la presente investigación se determinó la incidencia de *Escherichia coli* O157 y *Salmonella sp.* en carne molida de res comercializada en la ciudad de Texcoco. Se hicieron cuatro muestreos de carne, cada 15 días de junio a julio de 2012, en seis carnicerías, seis puestos de tianguis y seis tiendas de autoservicio. Se determinó la presencia de dichos patógenos con un kit comercial de ELISA. *E. coli* O157 se encontró en 24 (33%) muestras, de las cuales el 54% provinieron de carnicerías y 46% de puestos de tianguis. *Salmonella sp.* se halló en 11 (15%) muestras, 27% eran de carnicerías, 64% de puestos de tianguis y 9% de supermercados. En nueve (12.5%) muestras se encontraron ambos microorganismos al mismo tiempo. Solo en las carnicerías y puestos de tianguis existe el peligro de adquirir carne molida contaminada con *E. coli* O157 y *Salmonella sp.*

Palabras clave: *Escherichia coli* O157, *Salmonella sp.*, prevalencia, carne molida, establecimientos, peligro.

Incidence of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* sp. in beef marketed in Texcoco

3.2 Abstract

Escherichia coli O157 and *Salmonella* sp. are the major bacterial pathogens that contaminate beef and represents a strong public health problem. In this research, it was determined the incidence of *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* sp. in ground beef sold in Texcoco city. Four ground-meat samplings were conducted bimonthly during June and July 2012 in six butcher shops, six street markets stalls, and six supermarkets. The presence of these pathogens was determined with a commercial ELISA kit. *E. coli* O157 was found in 24 (33%) samples, of which 54% came from butchers and 46% from street market stalls. *Salmonella* sp. was found in 11 (15%) samples, belonging to butchers (27%), street market stalls (64%), and supermarkets (9%). In nine (12.5%) samples, both organisms were found simultaneously. There is a hazard of acquiring ground beef contaminated with *E. coli* O157 and *Salmonella* sp. in butcher shops and street market stalls.

Key Words: *Escherichia coli* O157, *Salmonella* sp., prevalence, ground beef, retail, hazard.

3.3 Introducción

Las enfermedades gastrointestinales son el principal problema de salud pública. *Escherichia coli* O157 y *Salmonella sp.* son bacterias patógenas que pueden infectar aun con un bajo número de células 100 UFC g⁻¹ y 14⁴ UFC g⁻¹ respectivamente (Todd, 1997, FDA, 1999).

La carne y la leche de bovino son los principales vehículos de transmisión de estas bacterias debido a que el tracto intestinal del ganado es su principal reservorio.

Las principales enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) producidas por serovariedades de *Salmonella sp.* son fiebre tifoidea y paratifoidea, por su parte *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) produce colitis hemorrágica que se caracteriza por dolor abdominal, diarrea acuosa sanguinolenta y poca o nula fiebre (Riley *et al.*, 1983; D'aoust, 2009; OMS, 2012).

El principal serotipo de EHEC es el O157 que produce verotoxinas (VT) denominadas toxinas tipo Shiga (STX) y puede presentar las variantes STX1, STX2 o ambas (Mead *et al.*, 2009).

Las *E. coli* patógenas se comportan de manera similar que las *E. coli* genéricas y son capaces de persistir y crecer en muchos alimentos. Algunas cepas de *E. coli* productoras de VT pueden mejorar su crecimiento y persistencia en condiciones adversas como condiciones ácidas en jugos, carne y lácteos fermentados (FAO, 2011).

La cepa O157 se asocia con casos aislados de síndrome urémico hemolítico (SUH), el cual se diferencia por daño renal agudo, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática, precedida por diarrea con sangre (Foster *et al.*, 2010).

Ambos patógenos se han clasificado como microorganismos indicadores de contaminación fecal, y es durante el faenado cuando la canal se contamina, a su vez los cortes primarios, hasta la carne molida (Eisel *et al.* 2007).

En México, *Salmonella sp.* es una de las bacterias que causan mayor número de infecciones gastrointestinales, las serovariedades más aisladas son *Salmonella* Paratyphi y *Salmonella* Typhimurium (Paniagua *et al.*, 2007). *E. coli* O157 es una bacteria cuya epidemiología se ha estudiado poco en México, pese al riesgo que representa para niños menores de 5 años. En la mayor parte de los estudios epidemiológicos realizados en países en vías de desarrollo, se ha observado que la infección por *E. coli* tiene una elevada tasa de morbilidad y mortalidad (Eisel *et al.* 2007; Paniagua *et al.*, 2007).

En el país existe poca información sobre la presencia de *E. coli* O157, pero se ha detectado en varios eslabones de la cadena productiva. Callaway *et al.* (2004) y Amézquita-López *et al.* (2012) la detectaron en heces de bovino de varias granjas con frecuencias de 1.25% y 40% respectivamente.

Gallegos *et al.* (2009) y Narvaez-Bravo *et al.* (2013) la detectaron en mataderos, en heces y en canales con frecuencias de 66% y 11.7% respectivamente.

Paniagua *et al.* (2007) reportaron que este patógeno infectó a 8.6% de niños hospitalizados por diarrea aguda. Gómez-Aldapa *et al.* (2013) reportaron una prevalencia de 47.5% en carne molida de mercados de Pachuca, Hidalgo.

Es necesario que la cadena productora de carne de bovino establezca buenas prácticas de manufactura y sistemas de inocuidad que garanticen que sus productos fueron elaborados bajo normas apropiadas de higiene (Vásquez *et al.* 2009).

Además se debe tener la infraestructura institucional adecuada para el diagnóstico y control de infecciones, realizar diagnósticos microbiológicos rápidos y generar registros epidemiológicos (Vidal *et al.*, 2007).

La cepa O157 no ha sido reportada en establecimientos que venden carne al consumidor final, mientras que *Salmonella sp.* es una bacteria que de estar presente amerita el desecho de la carne.

Texcoco es una zona donde se comercializa carne de bovino proveniente de diferentes lugares, tanto ganado local como foráneo, y no existen estudios de presencia de patógenos en carne de la zona.

Es por ello que el objetivo de esta investigación fue determinar la incidencia de *Escherichia coli* O157 y *Salmonella sp.* en carne molida vendida en los tres principales puntos de venta (carnicerías, tianguis y supermercados) de la ciudad de Texcoco de Mora, Estado de México, con un kit de detección rápido ELISA.

3.4 Materiales y métodos

El presente trabajo fue un estudio de prevalencia, realizado en la ciudad de Texcoco de Mora, Estado de México, durante los meses de junio a julio de 2012.

3.4.1 Muestreo y manejo de muestras

Se realizó un sondeo de los establecimientos donde se vende carne molida de bovino en la ciudad de Texcoco en el mes de enero de 2012. La cantidad de establecimientos se determinó en base a la cantidad de reactivos con el que se contaba para hacer el análisis. Del total de establecimientos se seleccionaron al azar 18, divididos por igual en carnicerías, tianguis y supermercados. Estos representaban el 9, 64 y 75% del total de establecimientos dentro de su categoría. A esos establecimientos se les realizó una evaluación del cumplimiento de la NOM-120-SSA1-1994 utilizando el método descrito por Ávila (2007) y a la carne molida comprada se le realizó un análisis organoléptico.

La muestra se obtuvo por la compra de 500 g de carne molida en cada establecimiento seleccionado, con el fin de evaluar la sanidad de la carne que adquiere el consumidor en dichos establecimientos, simulando la relación vendedor-consumidor. Los muestreos se hicieron cada quince días durante junio y julio de 2012, teniendo cuatro muestreos, 24 muestras por cada tipo de establecimiento y un total de 72 muestras de carne molida (Figura 1).

La identificación, transporte, manejo y preparación de las muestras se realizaron conforme a las NOM-109-SSA1-1994 y NOM-110-SSA1-1994.

Las muestras se recolectaron entre las 13 y 15 h. Cada muestra se colocó en bolsas de polietileno previamente desinfectadas y marcadas. Las muestras se trasladaron, al Laboratorio de Microbiología del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, en una hielera de poliestireno con gel refrigerante a 4 °C.

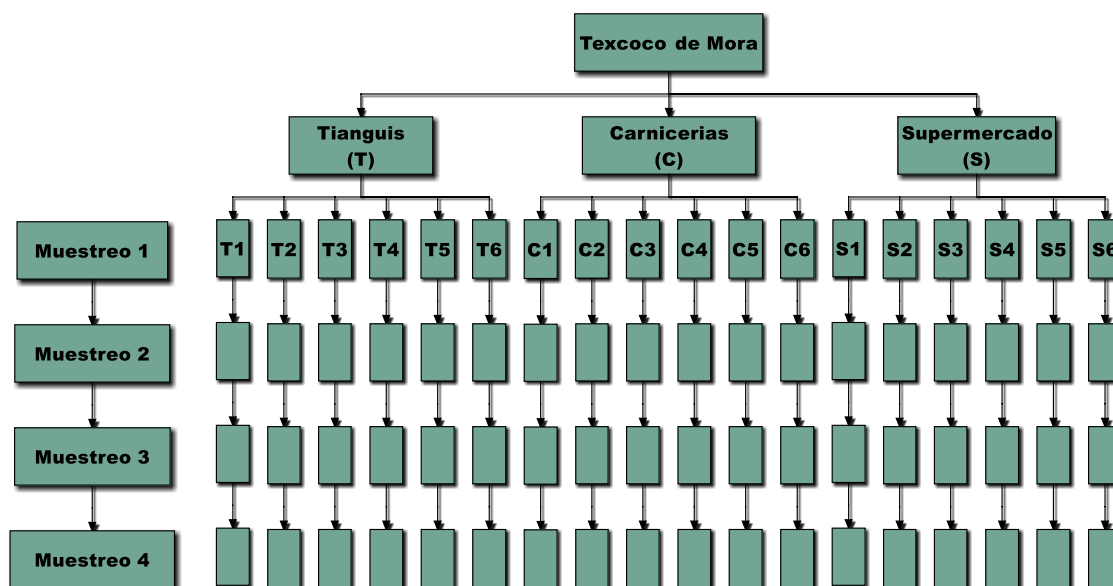


Figura 1. Diagrama del muestreo realizado en tianguis, carnicerías y supermercados con seis establecimientos para cada uno y cuatro muestreos en el tiempo.

3.4.2 Análisis de las muestras

Determinación de presencia de *E. coli* O157 y *Salmonella* sp.

Se utilizó la prueba rápida de inmunoensayo visual TECRA desarrollada por 3M (BTC-T-ECOVIA96 y BTC-T-SALVIA96) aprobada por la AOAC. Este es un método rápido de tamiz específico para la detección de patógenos y toxinas en alimentos. La prueba está basada en el principio de la técnica Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) realizado en una configuración de emparedado. La sensibilidad es de una a cinco UFC en 25 g de muestra. Los reactivos utilizados y su composición se describen en el Cuadro A5.

Método VIA TECRA *E. coli* O157: Se enriqueció homogeneizando 25 g de cada muestra con 225 mL de caldo EC modificado (3M) suplementado con Imbentin (3M) y Novobiocida (3M) durante 20 h a 42 °C. Pasado ese tiempo se transfirió 1 mL de la muestra enriquecida a un tubo de ensayo de 15 mL, se le adicionó 50 µL de aditivo (aditive) para muestra y se calentó durante 15 minutos a 100 °C. Después se transfirió 200 µL de cada muestra tratada por calor, 200 µL del testigo positivo (PC) y 200 µL del testigo negativo (NC) a cada pozo individual y se incubó

30 min a 36 °C. El primer lavado de los pozos se realizó vaciando y rellenando las cavidades tres veces con la solución de lavado (wash). Posteriormente se añadió 200 µL del conjugado (conjugate solution) a cada pozo y se incubó 30 min a 36 °C. Se hizo un segundo lavado y se adicionó 200 µL de sustrato (substrate solution) a cada cavidad vacía y se incubó 15 min a temperatura ambiente. Por último se agregó 20 µL de solución de alto (stop solution).

Método VIA TECRA *Salmonella* sp.: El enriquecimiento primario se hizo homogeneizando 25 g de cada muestra con caldo lactosado (3M) y se incubó por 18 h a 42 °C. Pasado ese tiempo, se realizó un enriquecimiento secundario transfiriendo 0.1 mL del enriquecimiento primario a un tubo con 9.9 mL de caldo Rappaport Vassiliadis R10 (3M) y se incubó por 18 h a 42 °C. Después se efectuó un post enriquecimiento transfiriendo 1 mL del enriquecimiento secundario a un tubo con 10 mL de caldo M (3M) y se incubó por 6 h a 37 °C.

Se transfirió 1 mL de cada post enriquecimiento a un tubo de ensayo de 15 mL y se calentó durante 15 min a 100 °C. Se adicionó 200 µL de cada muestra tratada con calor, 200 µL del PC y 200 µL del NC a cada cavidad individual y se incubó 30 min a 36 °C. El hizo el primer lavado, después se adicionó 200 µL de conjugado (conjugate solution) a cada cavidad vacía y se incubó 30 min a 36 °C. Se efectuó un segundo lavado, posteriormente se colocó 200 µL de sustrato (substrate solution) a cada cavidad vacía y se incubó 10 minutos a temperatura ambiente. Por último se agregó 20 µL de solución de alto (stop solution).

Pasando 30 min se leyeron, los pozos de ambos VIA TECRA con un lector de placas marca Metertech modelo 6⁺ ($\lambda=450$ nm), se consideraron positivas las muestras que presentaban absorbancias superiores a 0.2 (Figura A1).

Composición química: proteína, colágeno, grasa y humedad

Las muestras de carne molida se analizaron con un equipo Foodscan modelo Lab marca Foss, con una copa de lectura de cuarzo de 180 g. Las muestras se homogeneizaron por 30 seg en una picadora y se colocaron en la copa de lectura. Se tomaron tres lecturas por cada muestra.

Cuando la cantidad de muestra era menor a 180 g, se leía el restante de muestra y los datos se ajustaban por medio de una escala de ajuste.

La escala de ajuste se hizo tomando lecturas de carne molida a diferentes cantidades (100-180 g) en intervalos de 20 g y mediante regresión lineal se obtuvo el ajuste.

Análisis de datos

El análisis descriptivo de higiene de los establecimientos, se realizó observando el grado de cumplimiento (0-10) de la NOM-120-SSA1-1994 y se representó mediante un diagrama radial que comprende cinco puntos: personal, instalaciones, equipamiento, control de plagas, refrigeración y limpieza y desinfección.

La incidencia de *E. coli* O157 y *Salmonella* sp. se analizó con el procedimiento FREQ (SAS 9.2, 2008) $\alpha = 0.05$. Obteniendo la frecuencia y el porcentaje de muestras contaminadas por especie bacteriana y muestras contaminadas por ambas especies a la vez en función del tipo de establecimiento.

El contenido de nutrientes de la carne muestreada se analizó utilizando el procedimiento GLM (SAS 9.2, 2008).

Con base en ese análisis se hizo una prueba de comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$). También se realizó una correlación entre los nutrientes de la carne muestreada con la presencia de patógenos.

3.5 Resultados y discusión

El kit VIA TECRA *E. coli* O157 detecta solo *E. coli* con el antígeno somático O157 sin determinar el antígeno flagelar H7. A pesar de esto la O157 se debe de considerar como un organismo potencialmente patógeno. Los resultados se presentan en orden cronológico y los datos de prevalencia estarán en función del riesgo de adquirir carne contaminada con alguno de estos patógenos o ambos.

3.5.1 Análisis descriptivo de la carne muestreada

La carne muestreada presentaba diferentes características (Cuadro 8). Las muestras adquiridas en carnicerías mayoritariamente se molían al momento de compra, presentaban un color café y olor dulce. En los tianguis se tenía la carne ya molida y presentaban coloración y olor normal. En supermercados la carne ya estaba molida y presentaba color café y olor dulce.

Oliete *et al.* (2006) indican que el color de la carne varía dependiendo del tiempo de almacenamiento y contenido de O₂ ambiental (Cuadro A6). El color café en la carne se debe a la formación de meta mioglobina producto de un largo periodo de almacenamiento o una maduración en condiciones de vacío.

Franco *et al.* (2008) mencionan que el olor de la carne se debe a diversos factores, el olor dulce, indica que la carne es de un animal joven que contenía altas cantidades de glucógeno en el músculo, el olor ácido se debe a una maduración defectuosa que baja el pH de forma anormal y el olor a fermentación o putrefacción indican actividad de microorganismos.

Con base en lo anterior se destaca que la carne con mayor calidad organoléptica es la carne molida adquirida en los puestos de tianguis, pues su color y olor es normal, esto a pesar de que no cuentan con refrigeración y la carne se encuentra ya molida. López-Saucedo *et al.* (2010) indican que los vendedores ambulantes comercializan productos que compran ese mismo día, lo que indica que son productos más frescos.

Cuadro 8. Características descriptivas y organolépticas de la carne molida muestreada.

	Carnicerías	Tianguis	Supermercados
Presentación	Número (%)	Número (%)	Número (%)
Ya molida	6 (25)	19 (79.1)	24 (100)
Troceada	3 (12.5)	1 (4.2)	-
Molida al momento	15 (62.5)	4 (16.7)	-
Color			
Rojo pálido	7 (29.2)	8 (33.3)	5 (20.8)
Rojo	-	3 (12.5)	1 (4.2)
Normal	6 (25)	12 (50)	1 (4.2)
Café	6 (25)	1 (4.2)	14 (58.3)
Café pálido	5 (20.8)	-	3 (12.5)
Olor			
Normal	8 (33.3)	13 (54.1)	2 (8.3)
Poco dulce	-	-	4 (16.7)
Dulce	10 (41.7)	7 (29.2)	7 (29.2)
Muy dulce	2 (8.3)	1 (4.2)	1 (4.2)
Fermentado	1 (4.2)	-	5 (20.8)
Putrefacción	-	-	1 (4.2)
Indefinido	3 (12.5)	3 (12.5)	4 (16.7)
Precio			
Precio por kg	\$ 77.20	\$ 72.79	\$ 78.96
Precio real	\$ 78.44	\$ 79.80	\$ 75.38
Diferencia	-\$ 1.28	-\$ 7.01	\$ 3.58

Número: total de muestras por cada tipo de establecimiento; Indefinido: olor no característico de carne, Precio real: precio pagado en función de la cantidad adquirida.

Otro aspecto considerado fue el precio de venta contra la cantidad de carne vendida (Cuadro A7) donde se observó que la relación precio y cantidad varió en carnicerías y tianguis, teniendo un sobreprecio de la carne en promedio de \$ 1.28 y \$ 7.01 respectivamente, mientras que en los supermercados hay una diferencia a favor del consumidor de \$ 3.58.

3.5.2 Análisis descriptivo de los locales comerciales con base en NOM-120-SSA1-1994

Carnicerías: Tienen vitrinas refrigerantes, cuentan con agua corriente para lavar utensilios y el local resguarda la carne del medio. Sin embargo en la mayoría de carnicerías se observó un manejo deficiente del sistema de enfriamiento pues la

carne vendida se encuentra a temperatura ambiente. Las instalaciones presentaban suciedad y malos olores, que atraían fauna nociva (moscas y perros). El personal portaba batas blancas aunque en la mayoría éstas estaban sucias. Los utensilios no son lavados ni desinfectados sino hasta el final del día.

La carne proviene generalmente de rastros municipales aunque algunas carnicerías tienen pintado los logos de rastro TIF y México Calidad Suprema aunque ninguno exhibe algún documento que lo avale.

Tianguis: En estos establecimientos no se observan sistemas de refrigeración solo en algunos casos se observó el uso de hielo para mantener baja la temperatura del producto. La carne se encontraba al aire libre y estaba expuesta a fauna nociva. Los utensilios eran limpiados con trapos pero por la ausencia de agua no era posible limpiarlos continuamente. Además el origen de la carne es desconocido.

Supermercados: Cuentan con sistema de refrigeración, la carne se protege del medio mediante en empaques individuales, el personal está capacitado. Sin embargo en ocasiones el personal no ejerce bien su labor, podría existir contaminación cruzada con otros tipos de carne o productos. Las nuevas estrategias de venta hacen que la carne se venda a granel sin refrigeración lo que evidencia la ruptura de la cadena de frío.

La calificación promedio de las carnicerías fue de 4.3 la de tianguis 2.5 y supermercados 8.02 (Cuadro 9). Lo cual significa que los tianguis y carnicerías tienen deficiencias higiénicas pues no cumplen los requerimientos de la NOM-120-SSA1-1994 lo cual se observa en la Figura 2.

El origen de la carne es de rastros TIF y de carne de importación. En todos los supermercados se contaba con documentación que avalaba el origen de la carne. La higiene en el manejo de la carne reduce notablemente la contaminación por bacterias, para esto es necesario la capacitación del personal y que la empresa adopte sistemas de inocuidad alimentaria (FAO, 2011).

Cuadro 9. Calificación promedio de los aspectos considerados por la NOM-120-SSA1-1994.

Criterio	Carnicería	Tianguis	Supermercado
Personal			
Aseo personal	8	8	8
Ropa aseada	6	6	8
Cubre bocas	3	2	4
manos limpias	4	4	6
Red y cofia	0	0	4
Capacitación	3	4	6
Promedio	4	4	6
Instalaciones físicas			
Edificios	6	0	8
Pisos	3	1	9
Paredes	3	1	8
Techos	1	1	8
Limpieza	2	2	7
Promedio	3	1	8
Equipamiento			
Equipo	7	6	9
Materiales	5	4	8
Mantenimiento	3	2	9
Promedio	5	4	8.67
Control de plagas			
Protección	5	1	9
Medidas	5	4	9
Promedio	5	2.5	9
Limpieza y desinfección			
Equipo	3	0	8
Utensilios	5	4	8
Promedio	4	2	8
Refrigeración			
Refrigeradores	7	0	9
Carne refrigerada	3	3	8
Promedio	5	1.5	8.5

López-Saucedo *et al.* (2010) refieren que la carne de establecimientos no registrados o de vendedores ambulantes viene de rastros municipales o clandestinos lo cual hace alusión a contaminación microbiológica por malas prácticas de manipulación. Signorini *et al.* (2006) mencionan que en México existen tres orígenes de carne: la que viene de animales faenados en rastros TIF,

en rastros municipales y en establecimientos no registrados o sacrificados *in situ*. La calidad higiénica de la carne de rastros TIF es superior y la carne de rastro municipal o *in situ* está altamente contaminada.

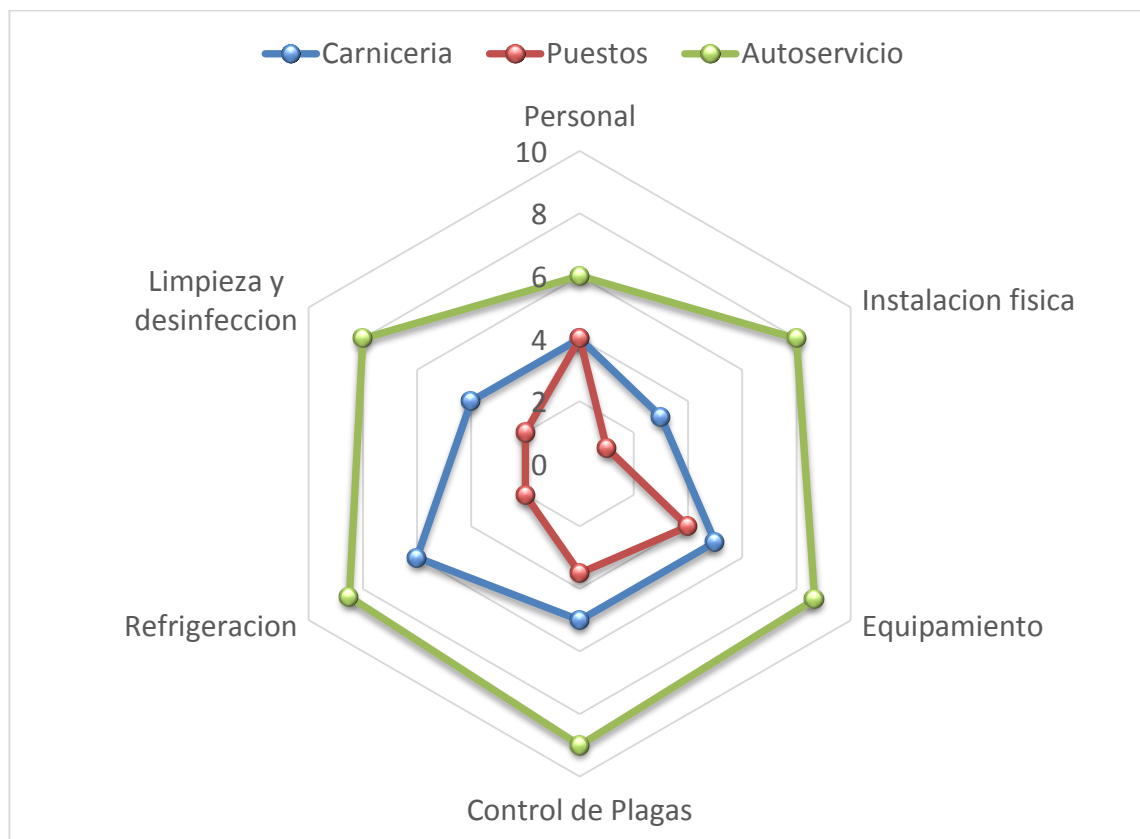


Figura 2. Higiene de los establecimientos comerciales de carne, con base en la NOM-120-SSA1-1994.

3.5.3 Presencia de *E. coli* O157 y *Salmonella* sp.

Por microorganismo

***Escherichia coli* O157** se detectó en 33.3% (24/72) de las muestras. La frecuencia de detección fue de 54.2% para carnicerías, 45.8% para tianguis y 0% para supermercados.

La cepa *E. coli* O157 está distribuida en países productores de ganado bovino, como EE. UU. y Argentina (Marzocca y Marucci, 2006). Sin embargo en México aún se discute sobre la prevalencia de esa cepa, estudios como el de Pond (2010) quien realizó un estudio en donde muestro carne en Monterrey,

Guadalajara y la Cd. de México buscando EHEC, obtuvo resultados negativos. Esto sugiere que la bacteria no se encuentra o que está en cantidades tan bajas que es indetectable.

Sin embargo Callaway *et al.* (2004), Estrada-García *et al.* (2004), Gallegos *et al.* (2009), Narváez-Bravo *et al.* (2013), entre otros han indicado presencia de la bacteria a nivel de granja, rastro, y canales.

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran la presencia de este patógeno en carne molida vendida directamente al consumidor final, al igual que lo encontrado por Gómez-Aldapa *et al.* (2013). Estos autores encontraron una prevalencia de *E. coli* O157 del 47.5% en carne molida de mercados de Pachuca lo cual contrapone a lo descrito por Pond (2010). Una de las razones por las que posiblemente no se detectó el patógeno radica en el tiempo de transporte de la muestra, pues según Gallardo *et al.* (2006) los alimentos contienen diversos factores que interfieren en los métodos de detección como enzimas, pH o microorganismos saprofitos.

En México hay escasa información sobre la presencia de este patógeno tal es el caso que no existe criterio alguno en las normas oficiales mexicanas (NOM) que determine el método de detección o regule la presencia de este.

Salmonella sp. fue positiva en 15% (11/72) muestras. La frecuencia de detección fue de 29.2% para carnicerías, 12.5% para tianguis y 4.2% para supermercados.

Rubio *et al.* (2013) realizando un estudio similar encontró mayor número de muestras positivas (28.9%) destacando que la carne contaminada provenía de rastros municipales.

Estos resultados son menores a los reportados por Narváez-Bravo *et al.* (2013) quienes encontraron prevalencia de 52.5% pero superior a lo encontrado por Pond (2010) 2.5%.

Este patógeno se encuentra distribuido en todo el mundo por lo que la NOM-114-SSA1-1994 indica el método por el cual se debe detectar *Salmonella*, mientras

que la NOM-213-SSA1-2002 indica que *Salmonella* debe estar ausente en todas las muestras analizadas. De acuerdo con la norma y los datos obtenidos, el 15% de las muestras deben ser desechadas pues no se debe considerar para consumo humano.

Por tipo de establecimiento y número muestreo

Carnicerías

***E. coli* O157:** La frecuencia de muestras positivas fue de 54% (13/24). En el primer muestreo (Cuadro 10) el 50% (3/6) de las muestras fueron positivas, en el segundo muestreo 17% (1/6), en el tercero 83% (5/6) y en el cuarto 67% (4/6). En todas las carnicerías se encontró al menos una muestra positiva para O157, en orden descendente las carnicerías con mayor frecuencia de muestras contaminadas fueron C4, C3, C2, C1, C5 y C6. En la carnicería 4 todas las muestras fueron positivas.

***Salmonella sp.*:** El 29% (7/24) de las muestras fueron positivas.

En el primer muestreo no se encontró alguna muestra positiva, tanto en el segundo y como en el tercero fueron positivas 33% (2/6) muestras y en el cuarto fue el 50% (3/6). Las carnicerías con mayor frecuencia de muestras positivas fueron en orden descendente C4, C1, C2, C3, C5 y C6.

Ambos patógenos en una misma muestra se encontraron con una frecuencia del 25% (6/24).

Cuadro 10. Porcentaje de incidencia *E. coli* O157 y *Salmonella sp* en carnicerías de acuerdo al número de muestreo.

	C1		C2		C3		C4		C5		C6		%		
Bacteria	EC	S	EC	S	EC	S	EC	S	CE	S	EC	S	EC	S	EC-S
M1													50	0	0
M2													17	33	17
M3													83	33	33
M4													67	50	50
%	25	25	75	25	75	25	100	50	25	25	25	25	54	29	25

C: carnicería; M: muestreo; EC: *Escherichia coli* O157; S: *Salmonella sp.*; EC-S: ambos en una misma muestra

Tianguis

***E. coli* O157:** La frecuencia de muestras positivas fue de 46% (11/24). En el primer muestreo (Cuadro 11) el 50% (3/6) de los puesto de tianguis fueron positivos, en el segundo el 33% (2/6) y durante el tercer y cuarto muestro el 50% (3/6).

Se observó que la mitad de los puestos muestreados fueron positivos, mientras que los puestos restantes fueron negativos. Estos establecimientos se encuentran en la vía pública, sin protección ni refrigeración, por lo que se esperaba mayor contaminación que en establecimientos cerrados como carnicerías. López-Saucedo *et al.* (2010) indican que los alimentos vendidos en la calle son más propensos a estar contaminados por cepas patogénicas.

***Salmonella sp.*:** La frecuencia fue del 13% (3/24). A excepción del primer muestreo, hubo una frecuencia de muestras positivas del 17% (1/24). La frecuencia fue menor que la de carnicería aunque fue mucho mayor del 5% reportado por Estrada-García *et al.* (2004) en carne adquirida en tianguis. La frecuencia de ambas bacterias en la misma muestra fue de 13% (3/24).

Cuadro 11. Porcentaje de incidencia *E. coli* O157 y *Salmonella sp* en tianguis de acuerdo al número de muestreo.

	T1		T2		T3		T4		T5		T6		%		
Bacteria	EC	S	EC	S	EC	S	EC	S	CE	S	EC	S	EC	S	EC-S
M1													50	0	0
M2													33	17	17
M3													50	17	17
M4													50	17	17
%	100	25	100	25	75	25	0	0	0	0	0	0	46	13	13

T: puesto de tianguis; M: muestreo; EC: *Escherichia coli* O157; S: *Salmonella sp.*; EC-S: ambos en una misma muestra

Supermercados

***E. coli* O157:** No se encontró alguna muestra positiva (Cuadro 12).

***Salmonella sp.*:** La frecuencia de muestras positivas fue de 4% (1/24), dicha muestra provino del supermercado 2. La carne de los supermercados es evidentemente la más higiénica con respecto a las carnicerías y los puestos de tianguis. Esto de acuerdo con la OMS (2012) se debe a que este tipo de establecimientos solo vende carne importada o de rastros TIF y tiene implementados sistemas de inocuidad y cadena de frío.

Cuadro 12. Porcentaje de incidencia *E. coli* O157 y *Salmonella sp* en supermercados de acuerdo al número de muestreo.

	S1		S2		S3		S4		S5		S6		%		
Bacteria	EC	S	EC	S	EC	S	EC	S	CE	S	EC	S	EC	S	EC-S
M1													0	0	0
M2													0	17	0
M3													0	0	0
M4													0	0	0
%	0	25	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0

S: supermercado; M: muestreo; EC: *Escherichia coli* O157; S: *Salmonella sp.*; EC-S: ambos en una misma muestra

El elevado número de muestras positivas en carnicerías y puestos de tianguis pone en evidencia la falta de higiene de estos sistemas de distribución de carne. Rubio *et al.* (2013) señalaron también que en estos lugares existe mayor riesgo de adquirir carne no higiénica y contaminada por patógenos.

Gómez-Aldapa *et al.* (2013) atribuyen la elevada contaminación a las pobres medidas higiénicas que tienen este tipo de establecimientos, a la escasa

regulación y monitoreo de instancias del sector salud y de acuerdo con la FAO (2011) a la falta de capacitación del personal sobre cuestiones de inocuidad. Según Estrada-García *et al.* (2004) y López-Saucedo *et al.* (2010) el ritmo de vida así como el poder económico del mexicano son factores que favorecen la compra de alimentos en lugares poco higiénicos como la calle o carnicerías insalubres donde se cuestiona primero el precio, en segundo término la calidad y se pasa por alto la inocuidad.

Hernández *et al.* (2011) realizaron un informe de la situación de las enfermedades gastrointestinales en México, indican que en el periodo de 2000-2008 se tienen reportado cerca de 45 millones de casos de infecciones gastrointestinales, de ellas 14 millones fueron en menores de 5 años y 10 millones en personas de 25 a 44 años. De estos grupos de edad *E. coli* (EHEC, EPEC y EAEC) afecta principalmente a los niños menores de 5 años y además son responsables de la diarrea del viajero, mientras que *Salmonella sp.* afecta principalmente al grupo de personas de 25 a 44.

A pesar del elevado número de muestras positivas, aun no se presentan brotes de consideración o casos de SUH a causa de VTEC aunque esto se puede deber a que en el país no hay un sistema de detección y registro de infecciones alimenticias (Paniagua *et al.*, 2007; Rivas *et al.*, 2008).

Mancera *et al.* (2004) y Mancera *et al.* (2005) recalcan la importancia del monitoreo de alimentos pues en sus muestreos encontraron una alta contaminación de diferentes grupos bacterianos que causan diarrea y destacan el riesgo a la salud pública.

Según Zaidi *et al.* (2006) los serovares de *Salmonella* más recurrentes en México son Typhimurium y Enteritidis, la menor manera de contrarrestar este problema es conociendo la epidemiología de los patógenos y generar formas de reducir los casos, como es el desarrollo de vacunas pero principalmente el desarrollo de sistemas de diagnóstico más rápido y específico.

Algo que se cuestiona a menudo es que pesar de la alta prevalencia de patógenos, no se han reportado brotes importantes de enfermedades gastrointestinales infecciosas, colitis hemorrágica o síndrome urémico hemolítico. Paniagua *et al.* (2007) y Rivas *et al.*, (2008) indican que esta situación no se debe a un régimen higiénico en el sector alimenticio sino que se debe a que en el país no existe un sistema de detección y registro de infecciones alimenticias, además que los pocos casos registrados se basadas únicamente en diagnósticos clínicos y no se cuenta con identificación microbiológica. Prats *et al.* (1996) mencionaron que existe un carácter inespecífico entre los patógenos y los signos clínicos, ergo si no se cuenta con la confirmación microbiológica dichos casos podrían deberse a cualquier microorganismo.

De acuerdo con el OITA (2010) existen grupos de personas que se encuentran infectados pero por alguna razón no desarrollan la enfermedad y se les cataloga como portadores asintomáticos. Al respecto Amézquita-López *et al.* (2012) mencionan que posiblemente la población mexicana puede contar con cierta resistencia a patógenos comunes en el medio.

Paniagua *et al.* (2007) exhortaron al monitoreo de patógenos, debido a que encontraron que niños hospitalizados por diarrea en la ciudad de México, el 52% era por infección de patógenos, de los cuales *Salmonella* había infectado al 28.3%, mientras que el 8.6% fue por VTEC (O157:H7).

La FAO (2011) indica que si bien los alimentos contaminados con bacterias pueden ser consumidos tras cocinarlos a temperaturas superiores a 70 °C, se debe tener especial cuidado con la contaminación cruzada ya que los alimentos ya cocinados pueden contaminarse a través de las materias primas, trato o manipulación inadecuados. Las bacterias pueden continuar creciendo en los alimentos, a menos que se controlen los parámetros de los procesos pertinentes, como valor del pH, actividad del agua, temperatura y tiempo. Sólo unas pocas células bacterianas que sobrevivan en los alimentos pueden ser suficientes para provocar enfermedades.

3.5.4 Composición química: proteína, colágeno, grasa y humedad

Debido a que la muestra de carne para analizar en el equipo Foodscan se procedió determinar la variación de las lecturas para proteína, humedad, colágeno, grasa en función de la cantidad de muestra. Los datos mostraron que los valores no son diferentes ($p > 0.05$) cuando se usa una cantidad entre 100 y 180 g, pero cuando la cantidad es menor a 100 g (40 a 100 g) los valores de las variables son diferentes ($p < 0.05$). En virtud de lo anterior se obtuvo la ecuación de regresión para cada componente de la carne, entre 100 y 180 g de muestra, con el fin de ajustar todas las lecturas a 180 g. Para humedad la ecuación fue agua (%) = $0.0103x + 64.155$ ($R^2 = 0.9765$), Proteína (%) = $0.0033x + 18.132$ ($R^2 = 0.9469$), colágeno (%) = $0.002x + 2.1512$ ($R^2 = 0.9543$) y grasa (%) = $0.0026x + 16.556$ ($R^2 = 0.9493$). Con los datos ajustados se pudo comprobar que no hubo diferencias ($p > 0.05$) en el contenido de proteína, colágeno y humedad de la carne molida, entre tipo de establecimiento.

En el contenido de grasa se encontró diferencia ($p < 0.05$) entre la carne vendida de supermercados con respecto a las de carnicerías y tianguis. El promedio de porcentaje de grasa de la carne de carnicería y tianguis fue de 5.1% y 5.5% respectivamente mientras la carne de supermercado fue de 11%. De acuerdo con el USDA (2011) el porcentaje normal de la carne molida cruda puede variar de 5 a 30% por lo que tanto carnicerías como tianguis están en el límite inferior de esta categoría. Debido a que la carne probablemente no sea de rastro TIF Flores *et al.* (2010) indican que la carne magra se puede deber al uso de aditivos y promotores del crecimiento como clenbuterol o somatotropina en el caso de vacas lecheras de desecho. Olaya (2012) encontró que en la ciudad de Texcoco la carne y viseras presentaban residuos de clenbuterol.

Entre carnicerías, tianguis y supermercados no existe correlación ($r = 0.0097$) entre el contenido de nutrientes y la presencia de *E. coli* O157 y *Salmonella sp.* Sin embargo Rivas *et al.* (2008) mencionan que el contenido de grasa puede tener un efecto inhibidor en algunas bacterias.

3.6 Conclusiones

Los resultados de esta investigación constituyen un aporte que demostró la presencia de *E. coli* O157 con una prevalencia del 33% en carne molida vendida en las carnicerías y puestos de tianguis de la ciudad de Texcoco. En esta ciudad, los consumidores tiene también altas probabilidades (15 %) de adquirir carne molida de res contaminada con *Salmonella sp.*

En los supermercados hubo menor riesgo de contaminación, en contraste las carnicerías y puestos de tianguis presentaron alta prevalencia de patógenos.

El kit VIA TECRA es adecuado para la detección de patógenos en carne, sin embargo se requieren estudios moleculares adicionales para evaluar el grado de patogenicidad de las cepas aisladas, así como de realizar nuevos aislamientos con técnicas específicas para aislamiento.

3.7 Recomendaciones

Es necesario seguir estudiando la cadena de producción de carne bovina para identificar puntos de control y reducir los riesgos para la salud pública.

Es necesario implementar en la industria cárnica mexicana, sistemas de prevención y control como los Procedimientos Operativos Estandarizados de Sanitización (POE's-SSOP's) y Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP).

El transporte de las canales debe ser en vehículos especiales que cuenten con refrigeración para evitar romper la cadena de frío. Así mismo el consumidor también debe mantener la cadena de frío hasta consumir el producto.

Las carnicerías y tianguis son grandes proveedores de carne en la zona y cuentan con gran demanda por lo que es necesario regularizarlos e implementar sistemas de inocuidad, cadena de frío y buenas prácticas de manipulación.

Los autoservicios requieren de auditorías constantes para verificar los sistemas ya implementados y mejorar la calidad de sus productos.

Las autoridades de la zona deben de realizar un registro con datos confiables sobre los comercializadores de carne para así poder realizar trazabilidad en caso de brotes de ETA.

Los consumidores deben de cocinar la carne a temperaturas superiores a 70 °C y evitar la contaminación cruzada.

3.8 Literatura citada

- Amézquita-López, B., B. Quiñones, M. B. Cooley, J. León-Félix, N. Castro-del Campo, R. E. Mandrell, M. Jiménez, and C. Chaidez. 2012. Genotypic analyses of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 and non-O157 recovered from feces of domestic animals on rural farms in Mexico. *PloS One* 7 (12): e51565.
- Ávila J., J. R. 2007. Diagnóstico en los niveles de higiene y sanidad durante el proceso de elaboración de Alimentos Orgánicos Procesados, Caso: Tianguis Orgánico Chapingo. Tesis Profesional. UACH. 89 p.
- Callaway, T. R., R. C. Anderson, G. Tellez, C. Rosario, G. M. Nava, C. Eslava, M. Blanco, M. Quiroz, A. Olguín, M. Herradora, T. S. Edrington, K. J. Genovese, R. B. Harvey, and D. J. Nisbet. 2004. Prevalence of *Escherichia coli* O157 in cattle and swine in central Mexico. *Journal of Food Protection* 67(10): 2274–6.
- D'aoust, J. Y. 2009. *Salmonella*. In: Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 5th. ed. Asm Press, Washington D. C., U. S. 879 p.
- Eisel, W. G., R. H. Linton, and P. M. Muriara. 2007. A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental sources, and ground beef in a red meat processing plant. *Food Microbiology* 14: 273-282.
- Estrada-García, T., C. López-Saucedo, B. Zamarripa-Ayala, M. R. Thompson, L. Gutiérrez-Cogco, A. Mancera-Martínez, And A. Escobar-Gutiérrez. 2004. Prevalence of *Escherichia coli* and *Salmonella spp.* in street-vended food of open markets (tianguis) and general hygienic and trading practices in Mexico City. *Epidemiology and Infection* 132 (6): 1181-1184.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2011. Prevención de la E. coli en los alimentos. Manual de capacitación sobre higiene de los alimentos. Dirección de información de la FAO. Roma, Italia. pp: 1-16.
- FDA (U. S. Food and Drug Administration). 1999. The problem of foodborne illness, Partnership for Food Safety Education. U. S. 35 p.
- Flores, R., C. Pacheco, C. A. Campos, J. M. Caraveo, y M. Carrión. 2010. Clenbuterol en hígado de bovinos de un matadero municipal de Michoacán, México. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 20 (1): 1-4.
- Foster, J., J. Fowler, and W. A. Ladges. 2010. Bacteriological survey raw ground beef. *Journal of Food Protection* 40 (11): 720-794.
- Franco, J., O. Feed, G. Bianchi, y G. Garibotto. 2008. Parámetros de calidad de carne en cinco músculos de novillos Holando durante la maduración post-mortem. *Agrociencia* XII (1): 61–68.

- Gallardo, M. E., N. Deza, W. R. Roibón, D. Pereyra, M. C. Benítez, R. O. Arzú, y S. I. Boehringer. 2006. Detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en reses bovinas y carne molida de Corrientes, Argentina. *Revista Veterinaria* 17 (1): 20-25.
- Gallegos, M., A. Morales, y G. Álvarez. 2009. Caracterización de aislados de *Escherichia coli* O157:H7 en canales de bovinos y porcinos mediante PCR. *RVZ-LUZ* 19 (2): 139-146.
- Gómez-Aldapa, C. A., C. A. Díaz-Cruz, J. F. Cerna-Cortes, M. R. Torres-Vitela, A. Villarruel-López, E. Rangel-Vargas, and J. Castro-Rosas. 2013. *Escherichia coli* O157 in ground beef from local retail markets in Pachuca, Mexico. *Journal of Food Protection* 76 (4): 680-684.
- Hernández, C. C., A. M. G. Aguilera, and E. G. Castro. 2011. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 31 (4): 137–151.
- López-Saucedo, C., J. F. Cerna, and T. Estrada-García. 2010. Non-O157 shiga toxin-producing *Escherichia coli* is the most prevalent diarrheagenic *E. coli* pathotype in street-vended taco dressings in Mexico City. *Clinical Infectious Diseases* 50 (3): 450–451.
- Mancera M., A., J. Vázquez N., M. L. Ontiveros C., S. Durán V., D. López H., and V. R. Tenorio G. 2005. Identificación de *Salmonella* Enteritidis en huevo para consumo en la ciudad de México. *Técnica Pecuaria México* 43 (2): 229–237.
- Mancera M., A., J. Vázquez N., y A. Henidi Z. 2004. Fagotipificación de aislamientos de *Salmonella* Enteritidis obtenidos de aves en México. *Técnica Pecuaria México* 42 (2): 287–294.
- Marzocca, M. A., and P. L. Marucci. 2006. Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. *Revista Argentina de Microbiología* 38 (1): 38–40.
- Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. Mccaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe. 2009. Food-Related Illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases*. 5 (5): 607-624.
- Narvaez-Bravo, C., M. F. Miller, T. Jackson, S. Jackson, A. Rodas-González, K. Pond, A. Echeverry, and M. M. Brashears. 2013. *Salmonella* and *Escherichia coli* O157:H7 prevalence in cattle and on carcasses in a vertically integrated feedlot and harvest plant in Mexico. *Journal of Food Protection* 76 (5).
- Oita (Prefectural Institute of Health and Environment). 2010. 大分県衛生環境研究センター年報 (Prefecture Health and Environmental Research Center Annual Report). Japan. 135 p.

- Olaya F., E. 2012. Residuos de clenbuterol en tejidos comestibles de bovino. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. México. 72 p.
- Oliete, B., T. Moreno, J. A. Carballo, L. Monserrat, y L. Sánchez. 2006. Estudio de la calidad de la carne de ternera de raza rubia gallega a lo largo de la maduración al vacío. Archivos de Zootecnia 55 (209): 3–14.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). 2012. Estadísticas sanitarias mundiales 2012. OMS. Ginebra, Suiza. 180 p.
- Paniagua, G. L., E. Monroy, O. García-González, J. Alonso, E. Negrete, and S. Vaca. 2007. Two or more enteropathogens are associated with diarrhea in Mexican children. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 8 (1): 6-17.
- Pond, A. R. 2010. *Salmonella* and E. coli O157:H7 prevalence and generic E. coli quantitative baselines in raw pork and beef at retail outlets in Mexico. Master Thesis, Texas Tech University, U. S., 71 p.
- Prats, G., C. Frías, N. Margall, T. Llovet, L. Gaztelurrutia, R. Elcuaz, y A. Canut. 1996. Colitis hemorrágica por *Escherichia coli* verotoxigenica. Presentación de 9 casos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 14 (1): 7–15.
- Riley, L. W., R. S. Remis, S. D. Helgerson, H. B. McGee, J. G. Wells, B. R. Davis, and R. J. Hebert. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. The New England Journal of Medicine 308 (12): 681–5.
- Rivas, M., G. Leotta, y I. Chinen. 2008. Diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* O157 productor de toxina shiga a partir de alimentos. 2a. ed. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, WHO. Buenos Aires, Argentina. 156 p.
- Rubio L., M. S., J. F. Martínez B., R. Hernández C., C. Bonilla C, R. D. Méndez M., J. F. Núñez E., A. Echeverry, and M. M. Brashears. 2013. Detección de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* y *Yersinia enterocolitica* en carne de res en puntos de venta en México. Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias 4 (486): 107–115.
- SAS. 2008. SAS/STAT 9.2 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. 104 p.
- Signorini, M., S. Civit, M. Bonilla, M. E. Cervantes, M. Calderón, A. Pérez, y C. Almanza. 2006. De los rastros y mataderos municipales. UNAM, México. 32 p.
- Todd, E. C. 1997. Epidemiology of foodborne diseases: a worldwide review. World Health Stat Q 50: 30–50.

- USDA (U. S. Department of Agriculture). 2013. Ground Beef Calculator. <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/beef/show>. Consultado el 10 de febrero de 2013.
- USDA (U. S. Department of Agriculture). 2011. Parásitos y las enfermedades transmitidas por alimentos. *In: Información sobre inocuidad de alimentos*. USDA. EE. UU. 8 p.
- Vásquez A., J., D. M. Valdés A., W. Molina S., A. Morales L., y G. Álvarez O. 2009. Calidad microbiológica de dos plantas procesadoras de cárnicos de la comarca lagunera, México. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas* 8 (1): 63–68.
- Vidal, J. E., A. Canizález, J. Gutiérrez, y F. Navarro. 2007. Patogénesis molecular, epidemiología y diagnóstico de *Escherichia coli* enteropatógena. *Salud Pública de México* 49 (5): 376–386.
- Zaidi, M, C. López M., y E. Calva. 2006. Estudios Mexicanos Sobre *Salmonella*: Epidemiología, Vacunas y Biología Molecular. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 48 (2): 121–125.

3.9 Apéndice

Cuadro A1. Causas microbianas más frecuentes de las enfermedades transmitidas por alimentos en los EE. UU.: números estimados por enfermos, hospitalizados y muertos.

Organismo	Enfermos	Hospitalizaciones	Muertes
Bacteria			
<i>Campylobacter</i> Síndrome Guillain-Barré (Parálisis)	2,000,000	10,500	99
<i>Clostridium perfringens</i>	249,000	40	7
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 Diarrea Sanguinolenta, daño a los riñones, síndrome urémico-hemolítico	62,500	1,800	52
<i>Escherichia coli</i> , otro	31,000	920	26
<i>Listeria monocytogenes</i> Abortos espontáneos, nacidos muertos, infección sanguínea, meningitis.	2,500	2,300	499
<i>Salmonella</i> sp	1,300,000	16,000	556
<i>Shigella</i> sp Disentería	90,000	1,250	14
<i>Staphylococcus</i> sp	236,000	2,100	2
<i>Vibrio</i> sp Escalofrió, fiebre.	5,200	125	31
<i>Yersinia enterocolitica</i>	86,700	1,100	2
Protozoo			
<i>Giardia lamblia</i>	200,000	500	1
<i>Toxoplasma gondii</i> Fiebre, glándulas hinchadas, complicaciones en el hígado y sistema nervioso central, daño en cerebro y ojos en infantes.	112,500	2,500	375
Virus			
Norwalk-like viruses	9,200,000	20,000	120

Mead et al., 1999.

Cuadro A2. Características de las principales ETA, así como los alimentos implicados y las formas de prevenirlos.

Enfermedad: ***Salmonelosis***

Inicio: Generalmente de 8 a 12 horas después de ser ingerida.

Síntomas: Gastroenteritis: diarrea, dolor abdominal, fiebre elevada y algunas veces náuseas y vómito. Los síntomas duran un día o menos y usualmente son moderados. Pueden ser más serio en personas de edades avanzadas o débiles.

Dosis Infectiva (DI) alta: $10^4 - 10^6$ UFC g⁻¹ (4.58 - 6 log UFC g⁻¹).

Características de la bacteria:

- Ampliamente extendida.
- Cepas de *Salmonella*.
- Se encuentra en intestino de hombres y animales infectados.

Se encuentra: 5 - 45° C (mesófila), pH: 4.5 - 9, Actividad del agua (Aw): >0.945

- Se destruye por cocción (termosensible).

Alimentos implicados:

- Los alimentos frecuentemente involucrados son las carnes crudas o poco cocidas, aves de corral, huevo, leche y otros productos lácteos, camarones, ancas de rana, levaduras, coco, pastas y chocolate.
- Alimentos elaborados con huevos crudos o poco cocidos (mayonesa, clara batida).
- Platos cocinados contaminados después del tratamiento térmico por manipuladores portadores o utensilios sucios.
- Vegetales de consumo crudo regados con aguas residuales.

Medidas preventivas:

- Cocción de alimentos a temperaturas ≤ 70 °C en el centro del producto.
- Utilizar huevos pasteurizados en platillos a base de huevos crudos o poco cocidos.
- Mantener los platos cocinados a ≤ 65 °C o ≤ 5 °C.
- Manipulador sano e higiénico, lavado de manos después de ir al baño o de manipular alimentos crudos.
- Utensilios y equipos limpios.
- Impedir contaminación cruzada.
- Lavado de vegetales de consumo con agua y unas gotas de lejía.
- Mantener en refrigeración huevos frescos.

Continúa.

Continuación.

Enfermedad ***Colibacilosis***

Síntomas: Diarrea en niños y adultos. La gravedad depende según la cepa.

DI alta: 10^6 - 10^{10} UFC g⁻¹ (6 - 10 log UFC g⁻¹).

Características de la bacteria:

- Huésped habitual del intestino del hombre y animales.
- Cepas de *Escherichia coli*.

Se encuentra: 10 - 45° C (mesófila), pH: 4.5 – 9, Aw: >0.945.

- Se destruye por cocción (termosensible).

Alimentos implicados:

- Carnes poco cocidas, hamburguesas, salchichas frescas.
- Platos cocinados, contaminados después del tratamiento térmico por manipuladores o utensilios sucios.
- Aguas no potables
- Vegetales de consumo crudo regados con aguas residuales.

Medidas preventivas:

- Cocción de alimentos a temperaturas ≤ 70 °C en el centro del producto.
- Mantener platos cocinados a ≤ 65 °C ó ≤ 5 °C.
- Manipulador sano e higiénico, lavado de manos después de ir al baño o de manipular alimentos crudos.
- Lavado de vegetales de consumo con agua y unas gotas de lejía.
- Utensilios y equipos limpios.

Enfermedad: ***Estafilococia***

Se debe a una toxina preformada por la bacteria en el alimento; esta se produce cuando los alimentos contaminados son dejados demasiado tiempo a temperatura ambiente.

Inicio: Generalmente de 30 minutos a 8 h después de ser ingerida.

Síntomas: Diarrea, vómito, náusea, dolores abdominales, espasmos intestinales y cansancio. Dura de 24 a 48 h. Es raramente mortal.

Para que se forme la toxina:

DI: $>10^5$ UFC g⁻¹ (5 log UFC g⁻¹).

Continúa.

Continuación.

Características de la bacteria:

- *Staphylococcus aureus*.
- Se encuentra en las fosas nasales y garganta de algunas personas sanas.
- Piel de afectados de procesos infecciosos cutáneos (acné, forúnculos, quemaduras, etc.).
- Animales portadores de donde pasa a la leche y carnes.

Se encuentra: 10 - 45° C (mesófila), pH: 4.5 – 9.3, Aw: >0.860.

- Crece a altas concentraciones de sal y azúcar.
- Se destruye por cocción (termosensible).
- La toxina resiste hasta 120° C de 10 a 40 minutos.

Alimentos implicados:

- Principalmente carnes, aves de corral, atún, ensalada de papa y macarrones.
- Carnes frías, fiambres.
- Quesos frescos.
- Productos de pastelería rellenos de crema o de nata.

Medidas preventivas:

- Manipulador con piel sana o convenientemente protegida.
- Utilizar mascarilla y guantes o cubiertos durante el empaquetado de alimentos.
- Cocción de alimentos a ≤ 70 °C en el centro del producto.
- Mantener los platos cocinados a ≤ 65 °C ó ≤ 5 °C.
- Impedir contaminación cruzada.

Enfermedad: **Botulismo**

Es Provocado por la toxina botulínica (producida por *Clostridium botulinum*).

Las esporas de esta bacteria están ampliamente distribuidas.

Inicio: Generalmente de 4 a 36 h después de ser ingerida.

Síntomas: Comienza con síntomas gastrointestinales seguidos con trastornos neurológicos que incluyen debilidad, laxitud, vértigos, dificultades de deglución, caídas de párpados, alteraciones de visión, fallo respiratorio, dificultad al hablar, y parálisis progresiva del sistema respiratorio. La tasa de mortalidad es alta.

Características de la bacteria:

- *Clostridium botulinum*.
- Presente en suelos, de donde contamina vegetales y animales.
- No se destruye en cocción normal, sino a 121 °C.
- La toxina, se inactiva por cocción durante 15 minutos.

Se encuentra: 10 – 50° C (mesófila), pH: >4.5, Aw: >0.94.

- Forma endosporas resistentes a medios adversos (calor, congelación, desecación).

Continúa.

Continuación.

Alimentos implicados:

- Esta bacteria produce la toxina solamente en un ambiente anaeróbico (sin oxígeno) de baja acidez (pH >4.5). Conservas, principalmente caseras de (espárragos, chicharos, frijoles, carne, pescado, etc.)
- Se ha encontrado principalmente en conservas caseras y en una gran variedad de alimentos enlatados como maíz, frijoles verdes, sopas, remolacha, espárragos, champiñones, atún, y paté de hígado. También en carnes preparadas, jamón, salchichas, berenjenas rellenas, langosta, y pescado ahumado y salado.
- Alimentos envasados al vacío.

Medidas preventivas:

- No probar ningún producto enlatado con síntomas de alteración.
- Productos envasados al vacío conservar a $\leq 5^{\circ}\text{C}$ y consumir dentro de la fecha de expiración.
- Tratamiento térmico suficiente de conservas de pH ≤ 4.5 .

Enfermedad: ***Perfringens***

En la mayoría de los casos es causado por no mantener los alimentos calientes. Algunos organismos están a menudo presentes después de cocinar y se multiplican a niveles tóxicos durante el enfriamiento y almacenaje de los alimentos preparados.

Inicio: Generalmente de 8 a 12 h después de ser ingeridos.

Síntomas: Dolor abdominal, diarrea intensa y algunas veces náuseas y vómitos.

Los síntomas duran un día o menos y usualmente son moderados. Pueden ser más serios en personas de edades avanzadas o débiles.

Características de la bacteria:

- *Clostridium perfringens*
- Bacteria muy extendida en suelo, aguas residuales, intestino de hombre y animales.

Se encuentra: 15 - 50° C (mesófila), pH: 5 - 5.8, Aw: >0.94.

- No se destruye en cocción normal, sino a 121° C.
- Forma endosporas resistentes a medios adversos (calor, congelación, desecación).

Alimentos implicados:

- Las carnes y sus derivados son los alimentos más frecuentemente implicados además de salsas y caldos preparados con antelación, elaborados a temperaturas inferiores a 100° C, enfriados lentamente y/o mantenidos a temperatura ambiente.

Continúa.

Continuación.

Medidas preventivas:

- Mantener platos cocinados a $\leq 65^{\circ}\text{C}$ ó $\leq 5^{\circ}\text{C}$.
- Enfriar rápidamente los platos que no van a consumirse de inmediato, de modo que pasen a una temperatura 10°C en el centro del producto en menos de 2 horas.
- Recalentar platos refrigerados con rapidez, de modo que se alcancen 70°C en el centro del producto en menos de 1 hora.

(FDA, 1999; Fernández, 2001).

Cuadro A3. Identificación bioquímica de *Escherichia coli*.

Prueba Bioquímica	% de positividad	Prueba Bioquímica	% de positividad
Oxidasa	0	Fermentación de salicina	40
Producción de indol	98	Fermentación de adonitol	5
Rojo de metilo	99	Fermentación de inositol	1
Voges-Proskauer	0	Fermentación de L-arabinosa	99
Citrato de Simmons	1	Fermentación de la rafinosa	50
H ₂ S (TSI)	1	Fermentación de L-ramnosa	80
Hidrólisis de urea	1	Fermentación de maltosa	95
Utilización de malonato	0	Fermentación de D-xilosa	95
Ácido de glucosa	100	Fermentación de trealosa	98
Gas de glucosa	95	Fermentación de celobiosa	2
Fenilalanina desaminasa	0	Fermentación de α -metil-D glucósido	0
Lisina descarboxilasa	90	Fermentación de eritritol	0
Arginina dihidrolasa	17	Hidrólisis de la esculina	35
Ornitina descarboxilasa	65	Fermentación de melobiosa	75
Movilidad a 36°C	95	Fermentación de D-arabitol	5
Hidrólisis de gelatina a 22°C	0	Fermentación de D-manosa	98
KCN crecimiento en	3	Fermentación de glicerol	75
Fermentación de lactosa	95	Nitrato a nitrito	100
Fermentación de la sacarosa	50	Tartrato de Jordán	95
Fermentación de D-manitol	98	Utilización de Acetato	90
Fermentación de D-sorbitol	94	Lipasa (aceite de maíz)	0
Fermentación de mucato	95	DNasa a 25°C	0
Fermentación de dulcitol	60	ONPG	95

Modificado de: Farmer, 1995.

Cuadro A4. Propiedades bioquímicas diferenciales de las subespecies de *Salmonella enterica*

Pruebas bioquímicas	<i>S. enterica</i> subespecie						<i>S. bongori</i>
	<i>enterica</i>	<i>salamae</i>	<i>arizonae</i>	<i>diarizonae</i>	<i>houtenae</i>	<i>indica</i>	
	(I)	(II)	(IIIa)	(IIIb)	(IV)	(VI)	(V)
Dulcita	+	+	-	-	-	d	+
ONPG	-	-	+	+	-	d	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-
Gelatina	-	+	+	+	+	+	-
Sorbita	+	+	+	+	+	-	+
KCN	-	-	-	-	+	-	+
L(+) tartrato	+	-	-	-	-	-	-
Mucato	+	+	+	- (70%)	-	+	+
Salicina	-	-	-	-	+	-	-
Lactosa	-	-	- (75%)	+	-	d	-
Hábitat	Animales de sangre caliente		Animales de sangre fría y medio ambiente				

+: 90% o más de los resultados positivos

-: 90% o más de los resultados negativos

d: diferentes reacciones

(Caffer y Terragno 2001)

Cuadro A5. Reactivos del kit VIA TECRA y su composición.

Solución	Componentes	
Wash (lavado)	Agua NaCl Tris	Polisorbato 20 Timerasal
Substrate (substrato)	Agua NaH ₂ PO ₄	EDTA ABTS
Conjugate (conjugado)	Agua Bórax NaCl	Gelatina hidrolizada Timerasal
Stop solution (Alto)	Agua Fluoruro de sodio	
Sample aditive (aditivo)	Agua Timerasal	Tris

Cuadro A6. Escala de color que presentaron las muestras de carne molida.

Café pálido (Cp)	Café (C)	Normal (N)	Rojo (R)	Rojo pálido (Rp)

Cuadro A7. Precio de la carne, precio real pagado, tipo de conservación y color de la carne.

Muestra	Precio / kg	Precio real	Conservación	Color
C11	\$80.00	\$73.48	R	Rp
C12	\$80.00	\$80.57	I	Cp
C13	\$90.00	\$98.01	R	C
C14	\$72.00	\$76.40	I	N
C15	\$70.00	\$69.41	I	Cp
C16	\$75.00	\$74.81	R	Rp
C21	\$80.00	\$80.00	R	N
C22	\$80.00	\$84.75	R	N
C23	\$80.00	\$81.30	R	C
C24	\$72.00	\$72.82	I	N
C25	\$70.00	\$71.43	R	N
C26	\$75.00	\$75.47	R	C
C31	\$80.00	\$77.75	R	Rp
C32	\$80.00	\$85.88	R	Rp
C33	\$72.00	\$85.17	R	Rp
C34	\$72.00	\$69.31	I	Cp
C35	\$70.00	\$69.10	R	Cp
C36	\$75.00	\$86.96	R	N
C41	\$80.00	\$80.00	R	Rp
C42	\$110.00	\$90.00	R	R
C43	\$72.00	\$70.00	R	C
C44	\$72.00	\$70.00	I	Cp
C45	\$70.00	\$70.00	R	Rp
C46	\$75.00	\$90.00	R	R
S11	\$86.20	\$87.20	R	Rp
S12	\$80.00	\$80.00	R	Cp
S13	\$85.00	\$94.80	R	R
S14	\$84.00	\$84.00	R	Cp
S15	\$73.90	\$73.92	R	Cp
S16	\$75.00	\$75.00	R	Rp
S21	\$88.70	\$52.71	R	Rp
S22	\$86.90	\$79.00	R	Cp

Continua.

Continuación.

S23	\$65.00	\$65.45	R	Cp
S24	\$99.90	\$99.90	R	R
S25	\$69.60	\$69.63	R	Cp
S26	\$59.90	\$59.90	R	Cp
S31	\$88.70	\$49.01	R	Rp
S32	\$49.00	\$49.00	R	Rp
S33	\$129.00	\$129.00	R	N
S34	\$96.90	\$101.70	R	C
S35	\$78.90	\$58.21	R	C
S36	\$59.90	\$62.30	R	C
S41	\$88.70	\$88.70	R	C
S42	\$49.00	\$49.00	R	C
S43	\$89.00	\$89.00	R	Cp
S44	\$75.00	\$75.00	R	Cp
S45	\$76.90	\$76.86	R	C
S46	\$59.90	\$59.90	R	C
T11	\$70.00	\$75.34	I	Rp
T12	\$70.00	\$86.09	I	Rp
T13	\$84.00	\$93.62	I	R
T14	\$70.00	\$84.97	I	Rp
T15	\$70.00	\$80.00	I	N
T16	\$76.00	\$81.82	I	N
T21	\$70.00	\$64.22	I	C
T22	\$70.00	\$70.00	I	Rp
T23	\$84.00	\$77.67	I	Rp
T24	\$70.00	\$78.26	I	N
T25	\$70.00	\$84.11	I	Rp
T26	\$75.00	\$80.81	I	N
T31	\$70.00	\$72.99	I	N
T32	\$70.00	\$63.06	I	N
T33	\$84.00	\$60.30	I	R
T34	\$70.00	\$77.52	I	Rp
T35	\$70.00	\$65.79	I	R
T36	\$70.00	\$102.04	I	N
T41	\$70.00	\$80.00	I	N
T42	\$70.00	\$100.00	I	N
T43	\$84.00	\$75.00	I	N
T44	\$70.00	\$84.00	I	N
T45	\$70.00	\$100.00	I	N
T46	\$70.00	\$77.52	I	Rp

C: carnicería, T: tianguis, S: supermercado, R: refrigeración, I: intemperie, Cp: café pálido, C: café, N: normal, R: rojo, Rp: Rojo pálido.

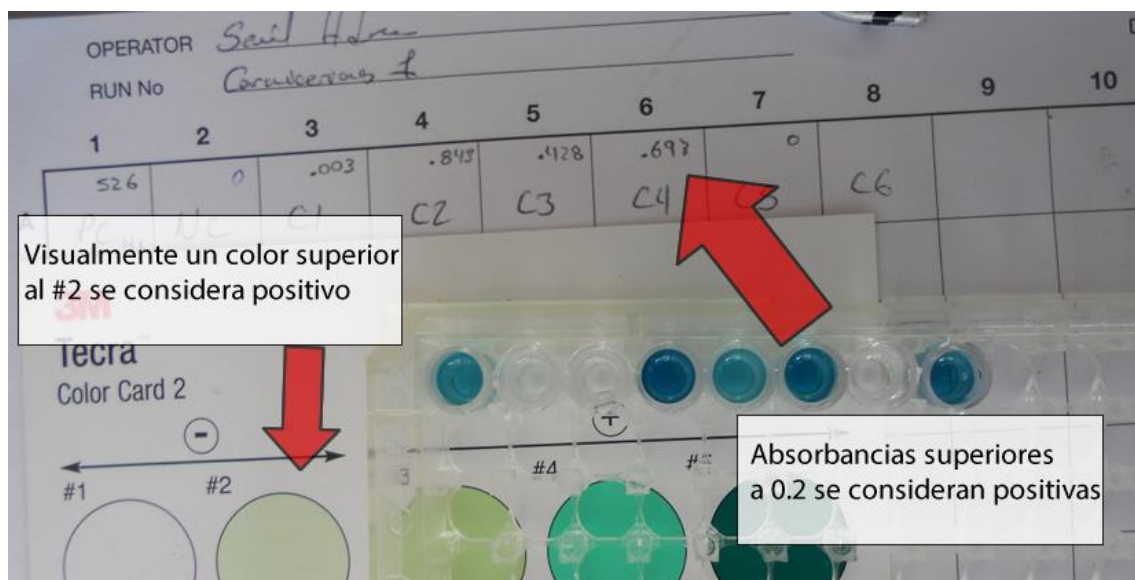


Figura A1. Criterio utilizado para considerar una muestra positiva.