

ESTUDIO PRELIMINAR PARA INVESTIGAR *SALMONELLA* SP. Y *E. COLI* O157:H7 EN CARNE MOLIDA DE RES, DE VENTA EN SUPERMERCADOS EN LA CIUDAD DE PUEBLA, MÉXICO

PRELIMINARY STUDY TO INVESTIGATE *SALMONELLA* SP. AND *E. COLI* O157:H7
IN GROUND BEEF SOLD IN SUPERMARKETS IN PUEBLA CITY, MEXICO

Carlos Cabrera-Maldonado^{1*}, Gloria León-Tello¹, Fausto Tejeda-Trujillo¹,
Belén Ramírez-Juárez², Marcos Flores-Encarnación³

¹Depto. de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas, Integrante del CA-38 en Microbiología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. ²Especialidad en Tecnología e Inocuidad Microbiana de los Alimentos, Facultad de Ciencias Químicas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. ³Laboratorio de Microbiología Molecular y Celular, Facultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Boulevard. 14 Sur y Av. San Claudio. Colonia Jardines de San Manuel. Puebla, Puebla, México, C.P. 72570.

*Autor para correspondencia: carlos.cabrera@correo.buap.mx

Fecha de recepción: 26 de marzo de 2013 / Fecha de aceptación: 27 de noviembre de 2013.

RESUMEN

Se ha reconocido que la presencia de bacterias patógenas en alimentos de origen bovino constituye un riesgo para la salud de las personas, debido a que estos microorganismos son capaces de generar problemas gastrointestinales. Estas patologías son una de las primeras causas de consulta médica y de muerte en México y en el mundo. El presente estudio buscó investigar la presencia de *Salmonella* sp. y *Escherichia coli* O157:H7 en 20 muestras de carne molida de res, adquiridas de manera aleatoria en supermercados de

la ciudad de Puebla, Puebla, México. Las metodologías utilizadas fueron los procedimientos descritos en la Normas Oficiales Mexicanas: bacterias mesófilas aerobias (NOM-092-SSA1-1994) y *Salmonella* sp. (NOM-114-SSA1-1994), que incluyeron las etapas de pre-enriquecimiento, enriquecimiento selectivo, inoculación en medios selectivos y diferenciales e identificación bioquímica y serológica. Aunque no se identificaron cepas de *Salmonella* sp. ni de *E. coli* O157:H7, se recomienda continuar con la búsqueda exhaustiva de estas bacterias o de otros

agentes patógenos, no sólo en la carne molida de res, sino en otros productos derivados del ganado bovino, con la implementación de técnicas moleculares.

PALABRAS CLAVE: carne molida, infecciones gastrointestinales, salmonelosis, colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico.

ABSTRACT

It is accepted that the presence of pathogen bacteria in food products made out of bovine is a human health risk because

these microorganisms are capable of producing gastrointestinal diseases. This kind of pathology is the main cause of medical consultation and death in Mexico and the world. The present study sought to find the presence of *Salmonella* sp. and *Escherichia coli* O157:H7 in 20 samples of ground beef, obtained at random in supermarkets in the city of Puebla, Mexico. The methodologies used were the ones described in the Mexican Official Standards: aerobic mesophilic bacteria (NOM-092-SSA1-1994) and *Salmonella* sp. (NOM-114-SSA1-1994), including the steps of pre-enrichment, selective enrichment, differential and enriched media inoculation, biochemical and serological identification. Even though neither *Salmonella* sp. nor *E. coli* O157:H7 strains were identified, the use of molecular techniques is recommended to make an exhaustive search of these pathogen agents, not only in ground beef, but also in other cattle-derived products.

KEYWORDS: Ground beef, gastrointestinal infections, salmonellosis, hemorrhagic colitis, hemolytic uremic syndrome.

INTRODUCCIÓN

Actualmente, en la ciudad de Puebla, existe poca o ninguna información referente a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), producidos por *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7 (Gallegos y col., 2009) en carne de res en canal. La contaminación de los alimentos de origen animal como la carne, de manera particular la carne molida, se puede ver favorecida por el tipo de nutrientes que contiene, la actividad del agua, y el hecho de que proviene de recortes sumamente manipulados, en los cuales existe una gran área superficial, creando condiciones para el desarrollo de microorganismos patógenos como *Salmonella* sp., *E. coli*, *Campylobacter* sp. y *Listeria* sp. (Franco y col., 2001; Jure y col., 2010; Ferens y Hovde, 2011; León y col., 2011; McCollum y col., 2012; Vally y col., 2012; Soborg y col., 2013), por tanto, debe evitarse cualquier deficiencia en la manipulación, conservación, transporte, distribución y comercialización. En este sentido, la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2011), declara anualmente miles de casos

de enfermedades de origen microbiano causadas por la contaminación de alimentos, las cuales pueden tener un desenlace fatal o convertirse en un problema de salud pública, y pese al elevado número de éstas, tan sólo se refleja un porcentaje menor de los casos que se producen en diversos países. Debido a lo anterior, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la OMS, han instado a todos los países a que refuercen sus sistemas de inocuidad alimentaria y adopten medidas de vigilancia más rigurosas con respecto a la producción y el comercio de alimentos (ECDC, 2011).

Salmonella sp. es una bacteria patógena perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos, con fimbrias y pilis, algunas forman una microcápsula y no producen esporas, catalasa positiva, oxidasa negativa, fermenta glucosa, con producción de gas, pero no fermenta la lactosa, ni sacarosa, descarboxila arginina, lisina y ornitina, crece en citrato y produce H₂S y no hidroliza la urea (Fernández, 2000; Harvey y col., 2008; Brooks y col., 2011). Las cepas pueden permanecer viables en diferentes condiciones ambientales, sobreviven a la refrigeración, congelación y pueden resistir al calentamiento (Secretaría de Salud, 1994d; BAM, 2007; Harvey, 2008). Según el Centro de Control de Enfermedades (CDC), aproximadamente 40,000 casos de salmonellosis son reportados en los Estados Unidos cada año (Almeida y col., 2013). La transmisión es usualmente a través de manipuladores de alimentos, carnes y huevos no cocinados, siendo el pollo el mejor reservorio (Jeffrey, 2010; León y col., 2011).

Los síntomas suelen comenzar de 6 a 72 horas después de la infección, generalmente duran entre 4 a 7 días, y puede eventualmente provocar dolor de cabeza, fiebre, dolor abdominal, diarrea, vómito, erupción máculo-papulosa en pecho y espalda (Jeffrey, 2010). Los síntomas de artritis pueden aparecer de 3 a 4 semanas después de los síntomas agudos. Los enfermos presentan un período de convalecencia entre 1 y 8 semanas. Las formas clínicas pueden agruparse en: 1) infecciones asintomáticas agudas; 2) gastroenteritis aguda; 3) bacteremia con o

sin supuración local; 4) fiebre tifoidea y 5) estado de portador crónico asintomático (Jeffrey, 2010; Brooks y col., 2011). Todas las personas son susceptibles de adquirir esta enfermedad, pero los síntomas son más severos en la población pediátrica, de la tercera edad y los pacientes inmunocomprometidos. La infección puede ocasionar enfermedades crónicas y se debe evitar que las personas con síntomas de salmonellosis o portadores, manipulen alimentos.

Escherichia coli es una bacteria que normalmente vive en el intestino del ser humano y animales, aunque la mayoría de las variedades de esta bacteria son inocuas (no son patógenas). Prácticamente, desde su descubrimiento se ha reconocido su participación en las enfermedades humanas. Habitualmente, *E. coli* O157:H7 produce la colitis hemorrágica y daño renal, que requiere una baja dosis mínima infectante (10-100 células), es uno de los patógenos que mayor atención ha recibido, y hacia los cuales la industria de alimentos ha reenfocado su atención como una causa de morbilidad-mortalidad significativas (Jure y col., 2010; Evans, 2011; Vally y col., 2012; Ramoneda, 2013). La presencia de *E. coli* O157:H7 en carne molida de res constituye un factor de riesgo para el consumidor (Narváez y col., 2005; Marzocca y col., 2006; Kasnowski y col., 2008; Jure y col., 2010; Phang y Bruhn, 2011; Cardozo y col., 2012). La capacidad toxigénica de las cepas es necesaria para que el paciente desarrolle colitis hemorrágica y diarrea con sangre, ya que la citotoxina Stx es el principal mecanismo de virulencia (Varela y col., 2008; Jure y col., 2010; Cardozo y col., 2012; Ramoneda y col., 2013). El período de incubación es de 3 a 9 días, los síntomas que presenta el paciente incluyen cólicos severos (dolor abdominal) y diarrea, que inicialmente es líquida y luego va acompañada con sangre, también puede producir vómitos, fiebre que suele ser baja o no manifestarse. La enfermedad puede conducir a una pérdida permanente de la función renal denominada síndrome urémico hemolítico (SUH) (Vally y col., 2012; Soborg, 2013).

El presente estudio buscó investigar la presencia de *Salmonella* sp. y *E. coli*

0157:H7 en carne molida de res de venta en supermercados en la ciudad de Puebla, Puebla, México (Figura 1).

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo, descriptivo y transversal. Previamente, se elaboró un padrón que incluyó 76 tiendas de autoservicio identificadas como punto de venta de carne molida de res, durante el período de mayo a julio de 2011, debido a que la carne en esta presentación se puede adquirir con facilidad a un precio accesible en cualquier punto de venta de carne, y se consume en todas las épocas del año. Con el propósito de tener una muestra representativa, mediante el uso de las Tablas Military Std (Secretaría de Salud, 1991) y la realización de un sorteo aleatorio, se seleccionaron 20 establecimientos, donde se compraron las muestras a analizar (una muestra por cada establecimiento); las muestras de carne molida con su empaque fueron transportadas en condiciones de refrigeración, en un lapso no mayor a 3 horas (Secretaría de Salud, 1994a) al laboratorio, para determinar la calidad sanitaria mediante los recuentos de bacterias mesófilas aerobias e investigar la presencia de *Salmonella* sp. y *E. coli* 0157:H7 en estos productos. Los criterios de inclusión fueron: 1) Muestras de carne molida de res que estuvieran empaquetadas con algún material de protección; 2) Que fueran adquiridas en tiendas de autoservicio; 3) Seleccionadas en el sorteo; 4) De venta en la ciudad de Puebla, Puebla, México. Se descartaron aquellas muestras provenientes de una zona geográfica distinta a la establecida, de venta en carnicerías establecidas o mercados populares, que hubieran sobrepasado el límite de tiempo para ser procesadas y que por algún motivo se contaminaran por factores externos durante el transporte. La interpretación de los resultados se realizó mediante una estadística descriptiva.

Para el recuento de bacterias mesófilas aerobias (BMA), se procesaron las muestras mediante los métodos descritos en las NOM (Secretaría de Salud, 1994c). Se pesaron asépticamente 10 g de cada muestra y se procedió a la homogenización en 90 ml de agua peptonada, realizándose diluciones 10^1 a 10^6 (Secretaría de Salud, 1994b). Se transfirió una alícuota de 1 ml de cada dilución a cajas

Figura 1.

El consumo de carne molida de bovino contaminada que no sea sometida a un proceso eficiente de cocción puede ser vehículo para transmitir patógenos gastrointestinales como *Salmonella* sp. y/o *E. coli* 0157:H7.

Figure 1. The consumption of contaminated ground beef meat that is not subjected to an efficient cooking process can be a vehicle for transmitting gastrointestinal pathogens such as *Salmonella* sp. and / or *E. coli* 0157: H7.



Petri estériles y se adicionó agar métodos estándar estéril (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México). Se procedió a homogenizar las muestra con el medio de cultivo, dejando que gelificaran las placas y se incubaron durante 24 ± 2 h a 35°C ; posteriormente, se realizaron los recuentos correspondientes. Para la interpretación de los resultados se informó: recuento de BMA (ufc/g).

En la investigación de *Salmonella* sp., los análisis microbiológicos se realizaron mediante los métodos oficiales descritos en las NOM (Secretaría de Salud, 1994d). Se pesaron asépticamente 25 g de cada muestra y se procedió a la homogenización en 225 ml de caldo lactosado (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), se incubó

durante 24 ± 2 h a 35°C . Luego, se transfirió una alícuota de 1 ml del crecimiento en caldo lactosado a tubos, conteniendo 10 ml de caldo selenito de sodio (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), caldo tetrionato sin verde brillante (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), adicionado de una solución yodo-yoduro y Rappaport-Vassiliadis R10 Broth (Difco™, Sparks, MD USA). Se incubaron 42 ± 2 h a 35°C , para favorecer el crecimiento de *Salmonella* e inhibir a otras bacterias presentes en las muestras. Se realizó la inoculación en placas de agar *Salmonella* y Shigella (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar verde brillante (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar XLD (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México) y agar sulfito de bismuto (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México). Se incubaron 24 ± 2 h a 35°C ; posteriormente, se examinaron las placas para investigar la presencia de colonias típicas de *Salmonella* sp. lactosa negativas y productoras de H_2S ; para la identificación bioquímica, se utilizaron los ensayos primarios como agar de hierro y triple azúcar TSI (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar de hierro y lisina LIA (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), y las siguientes pruebas complementarias: catalasa, oxidasa (BBL, Sparks, MD USA), medio MIO (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México) agar citrato de Simmons (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México) y agar urea. Para la interpretación de los resultados se informó: presencia o ausencia de *Salmonella* sp.

La detección de *E. coli* 0157:H7, se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Rivas y col. (2008). Se pesaron asépticamente 65 g de cada muestra, y se realizó un enriquecimiento con 585 ml de caldo lauril sulfato (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México). Se incubó 42 ± 2 h a 35°C , para promover el desarrollo de bacterias "patógenas que se encuentren en bajo número a partir de muestras de alimentos donde hay una elevada concentración de microorganismos comensales" (Rivas y col., 2008). Para la inoculación en medios selectivos y diferenciales, se usaron placas de agar Mac Conkey (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar Mac Conkey sorbitol (Difco, Sparks, MD USA) suplementado con telurito de cefixime; posteriormente, se implementó el uso de CHROMagar™ para la identificación presuntiva de *E. coli* 0157:H7 incubando 24 ± 2 h a 35°C . Se

realizó la identificación visual de las colonias de *E. coli*, siendo lactosa positiva en agar Mac Conkey, no fermentadoras de sorbitol en placas de agar Mac Conkey sorbitol, y por el color malva en CHROMagar™. Las cepas presuntivas de *E. coli* O157 fueron inoculadas para su identificación bioquímica en agar de hierro y triple azúcar (TSI) (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar de hierro y lisina (LIA) (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), medio MIO (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México), agar citrato de Simmons (Bioxon, Cuautitlán Izcalli, México) y agar urea, catalasa, oxidasa (BBL, Sparks, MD USA). Para la interpretación de los resultados se informó: presencia o ausencia de *E. coli* O157:H7.

En la estandarización de las metodologías, se procesaron tres muestras de carne molida de res adquiridas en un mercado al sur de la ciudad de Puebla. De este ensayo, se recuperó una cepa sugestiva de *Salmonella* sp., la cual fue identificada por los ensayos bioquímicos propuestos. Posteriormente, fue confirmada en el equipo miniAPI 20E bioMérieux, obteniéndose un 99.9 % de certeza en el resultado. Además, se identificaron colonias de *E. coli*, lactosa positiva en agar Mac Conkey, y no fermentadoras de sorbitol en placas de agar Mac Conkey sorbitol. Para la confirmación por PCR, las cepas fueron enviadas al Departamento de Salud Pública del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, y al Laboratorio de Bacteriología Intestinal del Departamento de Infectología del Hospital "Federico Gómez" de la ciudad de México. Se realizó la prueba de aglutinación con suero polivalente O157, resultando negativas ambas pruebas a *E. coli* O157:H7. Adicionalmente, se realizaron los ensayos de sensibilidad antimicrobiana a las cepas enviadas, presuntivas de EHEC.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La calidad sanitaria de la carne molida de res analizada, reflejó una carga microbiana elevada. En todas las muestras analizadas, los recuentos de BMA oscilaron entre 500 000 ufc/g (5.7 log ufc/g) como valor mínimo y 10'000 000 ufc/g (7.0 log ufc/g) como valor máximo, presentando un valor promedio y desviación estándar de 6.5 ± 0.4 log ufc/g. Resultados de BMA similares a los obtenidos en el

presente estudio fueron reportados por Arthur y col. (2010) y Phillips y col. (2012). Una carga microbiana elevada puede estar acompañada de la presencia de microorganismos patógenos en los alimentos. Sin embargo, en el presente estudio no se detectó la presencia de *Salmonella* sp. mediante el empleo de ensayos bioquímicos primarios y complementarios: (lactosa -, producción de H₂S en TSI y LIA; lisina +; movilidad +; indol -; ornitina +; citrato + y urea -). Es importante señalar que el 65 % de las cepas aisladas fueron productoras de H₂S, pero en los medios de cultivos selectivos y diferenciales utilizados, se descartó que fueran *Salmonella* sp, ya que las características bioquímicas no correspondían a esta especie. Sin embargo se identificó 25 % (5/20) *Proteus vulgaris* (producción de

H₂S en TSI y LIA, desaminación de lisina, indol + y urea +); 10 % (2/20) *Proteus mirabilis* (producción de H₂S en TSI y LIA, desaminación de lisina, indol - y urea +) y 30 % (6/20) a *Citrobacter freundii* (producción de H₂S en TSI y LIA, lisina -, indol - y urea -). Además, de otras enterobacterias como *Klebsiella* sp. 2/20 (10 %), *Enterobacter* sp. 3/20 (15 %) y *E. coli* no O157 2/20 (10 %).

En la identificación de *E. coli* O157:H7, a pesar del desarrollo de colonias lactosa positivas en agar Mac Conkey, no hubo crecimiento de colonias sorbitol negativas en agar Mac Conkey sorbitol, ni colonias color malva en CHROMagar™, que refieran la identificación preliminar de esta bacteria, como lo han reportado otros investigadores (Hirvonen y col., 2012) (Tabla 1).

Tabla 1.

Resultado de los análisis microbiológicos realizados a las muestras de carne molida de res de venta en supermercados en la ciudad de Puebla, Puebla, México.

Table 1. Microbiological analysis results carried out on samples of ground beef sold in supermarkets in the city of Puebla, Puebla, México.

Número de establecimiento	BMA log (ufc/g)	<i>Salmonella</i> sp	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Otras bacterias aisladas
1	6.2	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
2	6.9	Ausencia	Ausencia	<i>Enterobacter aerogenes</i>
3	6.7	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
4	6.9	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
5	7	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
6	5.7	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
7	6.8	Ausencia	Ausencia	<i>Klebsiella</i> sp
8	6	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
9	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>Klebsiella</i> sp
10	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>Enterobacter aerogenes</i>
11	6.9	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus mirabilis</i>
12	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>E. coli</i>
13	6.7	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
14	7	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
15	6	Ausencia	Ausencia	<i>E. coli</i>
16	6.3	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus vulgaris</i>
17	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>
18	6.6	Ausencia	Ausencia	<i>Proteus mirabilis</i>
19	6.5	Ausencia	Ausencia	<i>Enterobacter aerogenes</i>
20	5.7	Ausencia	Ausencia	<i>Citrobacter freundii</i>

Factores como el reducido número de muestras analizadas, recolectadas en un período determinado del año, el no incluir en este estudio las carnicerías establecidas y de los mercados populares, el ser recolectadas en una sola ciudad, de un punto de venta muy particular, como lo es el área de carnes en los supermercados, donde aparentemente las condiciones de proceso y manejo del producto cumplen con la normatividad vigente, pudieron ser circunstancias que influyeron de manera negativa para recuperar *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7. Además que estudios realizados por otros investigadores (Franco y col., 2001; Narváez y col., 2005; Marzocca y col., 2006; Kasnowski y col., 2008; Pérez y col., 2008; Varela y col., 2008; Treviño y col., 2009; Kiermeier, 2011; Phillips y col., 2012; Vally y col., 2012), reportaron un bajo porcentaje de recuperación de estas bacterias.

A pesar de no haber aislado cepas de *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7 en este estudio, se debe tomar en cuenta, que el ganado bovino es el reservorio primario (Jacob y col., 2011; Ramoneda y col., 2013) para la transmisión de agentes patógenos como *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7. Por lo tanto, se recomienda mejorar el sacrificio de los animales, así como las condiciones sanitarias en rastros, ya que la contaminación de la carne en canal es el resultado directo de la transferencia de patógenos presentes en el ganado bovino y su posterior contaminación a la carne. Así lo publican diversos estudios donde argumentan que el consumo de carne de res se asocia con infecciones producidas por *Salmonella* sp. y *E. coli* O157:H7, situación que actualmente se está convirtiendo en una seria amenaza para la seguridad alimentaria en diferentes países del mundo (Evans y col., 2011; Phang y Bruhn, 2011; Vally y col., 2012; Ramoneda y col., 2013; Soborg y col., 2013).

Sería conveniente realizar estudios permanentemente, orientados a la búsqueda exhaustiva de estas bacterias

o de otros agentes patógenos, no sólo en la carne molida de res, sino en otros productos derivados del ganado bovino, mediante la implementación de técnicas moleculares, para evitar la omisión de los patógenos de interés con la aplicación de las técnicas de cultivo convencionales. Finalmente, la ausencia de *Salmonella* sp. y *E. coli* O157 en la carne de bovinos en canal no puede ser garantizada (Jure y col., 2010; Ramoneda y col., 2013).

CONCLUSIONES

No se encontró la presencia de *Salmonella* sp. ni de *E. coli* O157:H7 en las muestras analizadas; sin embargo, se detectaron otras enterobacterias como *Proteus* sp., *Citrobacter* sp., *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. y *E. coli* no O157:H7. Por lo tanto, se recomienda que la carne tenga un buen proceso de cocción antes de ser consumida, además, es conveniente que se realicen estudios continuos que estén dirigidos a la identificación de estas bacterias o de otros microorganismos, mediante el uso de técnicas moleculares.■

AGRADECIMIENTOS

M. en C. Alma López García, del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias Químicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, por la identificación de la cepa de *Salmonella* sp., aislada durante la realización de la prueba preliminar, confirmada con el equipo miniAPI 20E.

Dra. Jeannette Barba León, del Departamento de Salud Pública del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, quien realizó la prueba de aglutinación con suero monoespecífico O157 y confirmación por PCR, de las cepas presuntivas aisladas.

Dr. Juan Xicoténcatl-Cortés del Laboratorio de Bacteriología Intestinal del Hospital Infantil de México "Federico Gómez", por la realización de los ensayos de sensibilidad antimicrobiana a las cepas presuntivas aisladas y confirmación por PCR.

REFERENCIAS

- Almeida, C., Cerqueira, L., Azevedo, N. F., and Viera, M. J. (2013). Detection of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis using real time PCR, immunocapture assay, PNA FISH and standard culture methods in different types of food samples. *International Journal Food Microbiology*. 161:16-22
- Arthur, T. A., Brichta-Harhay, D. M., Brosilevac J. M., Kalchayanand, N., Shackerford, S. D., Wheeler, T. L., and Koohmaraie, M. (2010). Super shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by cattle and impact on beef carcass contamination. *Meat Science*. 86(1): 32-37.
- Bacteriological Analytical Methods (2007). Chapter 5. *Salmonella*. [En línea]. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm070149.htm>. Fecha de consulta: 18 de febrero de 2011.
- Brooks, G., Butel, J., Morse, S. y Mietzner, T. (2011). *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. México: Mc Graw Hill. 221-225 Pp.
- Cardozo, L., Martínez, R. E., Feng, P. y Villalobos, L. B. (2012). Primer aislamiento de *E. coli* no O157 productor de toxina Shiga en carnes bovina y porcina en Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 32(2):107-111.
- European Center for Disease Control (2011). EU case definition: HUS caused by epidemic strain Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli*. [En línea]. Disponible en: http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/escherichia_coli/epidemiological_data/Pages/EU_case_definition.aspx. Fecha de consulta: 14 de mayo de 2012.
- Evans, J., Knight, H., McKendrick, I. J., Stevenson, H., Varo, B. A., Gunn, G. J., and Low, J. C. (2011). Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 and serogroups O26, O103, O111 and O145 in sheep presented for slaughter in Scotland. *Journal of Medical Microbiology*. 60: 653-660.
- Ferens, W. A. and Hovde, C. J. (2011). *Escherichia coli* O157:H7: animal reservoir and sources of human infection. *Foodborne Pathogens Disease*. 8(4):465-487.
- Fernández, E. (2000). *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. México: Universidad Autónoma de Querétaro. 261-303 Pp.
- Franco, U. L., Vargas, P. X., Mendoza, I. A., Bayona, R. M. y Plaza, A. (2001). Determinación de *Escherichia coli* O157 a partir de productos cárnicos y lácteos artesanales empleando dos sistemas de aislamiento. [En línea]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=49911595004>. Fecha de consulta: 11 de julio de 2011.
- Gallegos, M., Morales, A., Álvarez, G.,

- Vásquez, J., Morales, L., Martínez, I. y Maldonado, J. (2009). Caracterización de aislados de *Escherichia coli* O157:H7 en canales de bovinos y porcinos mediante PCR. *Revista Científica FCV-LUZ*. 19(2):139-146.
- Harvey, R., Champe, P. y Fisher, B. (2008). *Microbiología*. Barcelona: Lippincott William & Wilkins. 115-117 Pp.
- Hirvonen, J. J., Siitonen, A., and Kaukoranta, S.S. (2012). Usability and Performance of CRHOMagar STEC Medium in Detection of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains. *Journal of Clinical Microbiology*. 50(11):3586-3590.
- Jacob, M. E., Almes, K. M., Shi, X., Sargeant, J. M., and Nagaraja, T. G. (2011). *Escherichia coli* O157:H7 genetic diversity in bovine fecal samples. *Journal Food Protection*. 74(7):1186-1188.
- Jeffrey, C. P. (2010). *Alcamo's Fundamentals of Microbiology*. United States: Jones and Bartlett International Edition. 843 Pp.
- Jure, M. A., Condori, S., Leotta, G. A., Chinen, I., Miliwebsky, E., Allori, C., Aulet, O. y de-Castillo, M. C. (2010). Detección, aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga a partir de carne molida fresca proveniente de carnicerías de Concepción, provincia de Tucumán. *Revista Argentina de Microbiología*. 42(4):284-287.
- Kasnowski, C. M., Franco, R. M., Trindade, O. L. A., Valente, A.M., Carvalho, J. C. y Conte, J. A. C. (2008). Detección, caracterización serológica y antibiogramas de *Escherichia coli* aisladas de carne de ternera (babilla) entera y picada. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*. [En línea]. Disponible en <http://www.respyn.uanl.mx/ix/3/index.html>. Fecha de consulta: 20 de mayo de 2011.
- Kiermeier, A., Mellor, G., Barlow, R., and Jensen, I. (2011). Assumptions of acceptance sampling and the implications for lot contamination: *Escherichia coli* O157 in lots of Australian manufacturing beef. *Journal of Food Protection*. 74(4):539-544.
- León, T. G., Gómez, C. Z., Cabrera, M. C., Pérez, F. M. S., Gutiérrez, P. Y., Nava, G. N. M., García, G. A. y Barba, L. J. (2011). Búsqueda de *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7 en heces de pacientes adultos de la zona metropolitana de Guadalajara. En: Cabrera, E. D. (1ª Ed), *Antología de trabajos de investigación en inocuidad de alimentos*: pp. 140 - 147. Guadalajara, Mex: Editorial Universidad de Guadalajara.
- Marzoçca, M. A., Marucci, P. L., Sica, M. G. y Álvarez E. E. (2006). Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. *Revista Argentina de Microbiología*. 38:38-40.
- McCollum, J. T., Williams, N. J., Beam, S. W., Cosgrove, S., Ettestad, P. J., Ghosh, T. S., Kimura, A. C., Nguyen, L., Stroika, S. G., Vogt, R. L., Watkins, A. W., Weiss, J. R., Williams, I. T., and Cronquist, A. B. (2012). Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157:H7 infections associated with in-store sampling of an aged raw-milk Gouda cheese, 2010. *Journal Food Protection*. 75(10):1759-1765.
- Narváez, C. A., Parra, K. C., Huerta-Leidenz, N., Rodas-González y Arenas, M. L. (2005). Aislamiento de *Salmonella* y *E. coli* patógenas durante el procesamiento de hamburguesas en una pequeña planta de Maracaibo, Venezuela. *Revista Científica FCV-LUZ*. 15(6):551-559.
- Pérez, Ch. M. L., Guerrero, L. I. y Ponce, A.E. (2008). Detección de microorganismos patógenos e indicadores en carne de bovino que se expende en supermercados de la ciudad de México. *Nacameh*. 2(2):188-194. [En línea]. Disponible en <http://www.cbs.izt.uam.mx.nacameh>. Fecha de consulta: 10 de diciembre de 2010.
- Phang, H. S. and Bruhn, C. M. (2011). Burger preparation: what consumers say and do in the home. *Journal Food Protection*. 74(10):1708-1716.
- Phillips, D., Bridger, K., Jenson, I. and Summer, J., (2012). An Australian national survey of the microbiological quality of frozen boneless beef and beef primal cuts. *Journal Food Protection*. 72(10):862-1866.
- Organización Mundial de la Salud (2011). Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). [En línea]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>. Fecha de consulta: 18 de febrero de 2012.
- Ramonedá, M., Foncuberta, M., Simón, M., Sabaté, S., Ferrer, M.D., Herrera, S., Landa, B., Musté, N., Martí, R., Trabado, V., Carbonell, O., Vila, M., Espelt, M., Ramírez, B., and Durán, J. (2013). Prevalence of verotoxigenic *Escherichia coli* O157 (VTECO157) and compliance with microbiological safety standards in bovine carcasses from an industrial beef slaughter plant. [En línea]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23461411>. Fecha de consulta: 2 de abril de 2013.
- Rivas, M., Leotta, G. y Chinen, I. (2008). Manual de Procedimientos, diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* O157 productor de toxina Shiga a partir de alimentos. WHO Global Salm Surv. [En línea]. Disponible en: <http://fos.panalimentos.org/LinkClick.aspx?fileticket=1h11ApW7G8c%3D&tabid=120&mid=460&language=es-ES>. Fecha de consulta: 20 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1991). Subsecretaría de Administración y Finanzas, Dirección General de Recursos Materiales y Servicios Generales, Dirección de Suministros. Instructivo para la entrega de insumos médicos y bienes en los almacenes de la Secretaría de Salud. [En línea]. Disponible en: http://www.salud.gob.mx/c_adm_finanzas/doctos/instructivo_entrega.pdf. Fecha de consulta: 20 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1994a). Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. [En línea]. Disponible en: <http://legismex.mty.itesm.mx/normas/ssa1/ssa1109.pdf>. Fecha de consulta: 21 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1994b). Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/092ssa14.html>. Fecha de consulta: 21 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1994c). Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/110ssa14.html>. Fecha de consulta: 24 de enero de 2010.
- Secretaría de Salud (1994d). Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la determinación de *Salmonella* en alimentos. [En línea]. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/114ssa14.html>. Fecha de consulta: 24 de enero de 2010.
- Soborg, B., Lassen, S. G., Muller, L., Jensen, T., Ethelberg, S., Molbak, K., and Scheutz, F. (2013). A verocytotoxin-producing *E. coli* outbreak with a surprisingly high risk of haemolytic uremic syndrome, Denmark, September - October 2012. [En línea]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23324425>. Fecha de consulta: 2 de abril de 2013.
- Treviño, L. R. A., Mata, T. V., Espinoza, M. A., Martínez, V. I. O., Morales, L. A., Álvarez, O. G. y Gallegos, R. M. A. (2009). Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne fresca de res mediante PCR múltiple. *Revista de la Facultad de Salud Pública y Nutrición*. 10(2). [En línea]. Disponible en: <http://www.medigraphic.org.mx>. Fecha de consulta: 25 de marzo de 2011.
- Vally, H., Hall, G., Dyda, A. Raupach, J., Knope, K., Combs, B., and Desmarchelier, P. (2012). Epidemiology of Shiga toxin producing *Escherichia coli* in Australia, 2000 - 2010. [En línea]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22264221>. Fecha de consulta: 2 de abril de 2013.
- Varela, G., Chinen, I., Gadea, P., Miliwebsky, E., Mota, M. I., González, S., González, G., Gugliada, M. J., Carbonari, C. C., Algorta, G., Bernadé, M., Sabelli, R., Pardo, L., Rivas, M. y Schelotto, F. (2008). Detección y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga a partir de casos clínicos y de alimentos en Uruguay. *Revista Argentina de Microbiología*. 40(2):93-100.