

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL DE AGRICULTURA Y GANADERIA  
DE RIVAS (UNIAG-RIVAS)



TEMA DE INVESTIGACIÓN:

ANÁLISIS EPIDEMIOLÓGICO DE *Escherichia coli* O157:H7 Y  
STEC DETECTADA MEDIANTE PCR EN MUESTRAS DE  
CARNE BOVINA EN UN MATADERO DE NICARAGUA,  
ENERO 2012 A DICIEMBRE 2014

TÍTULO A OPTAR:

LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.

AUTORES:

- GILMA MERCEDES RAMÍREZ LUGO
  
- MANUEL ALEJANDRO MURILLO RIVAS

TUTOR:

LIC. LUIS MANUEL SALINAS RODRÍGUEZ.

Nandaime, 01 de Noviembre del 2015

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios por permitirme concluir con sabiduría y fortaleza mi carrera universitaria, a mis padres: María de Jesús Lugo Ulloa y Gilberto Antonio Ramírez Talavera por su esfuerzo, dedicación y ejemplo a seguir durante mi vida. A mi hermano Terry Lenin Ramírez Lugo por ser fuente de motivación e inspiración.

***Gilma Ramírez Lugo.***

Agradezco a Dios por brindarme la oportunidad de culminar mi carrera universitaria. A mis padres: María Teresa Rivas Rodríguez y José Manuel Murillo Martínez, por ser mi ejemplo de sabiduría, ética y superación al igual que mi hermana Dalila José Murillo Rivas, por ser modelo de esfuerzo en mi vida.

***Manuel Alejandro Murillo Rivas.***

Agradecemos al Servicio de Inspección de Carnes bajo la dirección del Dr. Norman Antonio Castellón Maltez, médico veterinario oficial de la planta ICSM-SA, por permitirnos desarrollar nuestras prácticas y trabajo de tesis, en colaboración con todos los inspectores auxiliares del IPSA a los cuales agradecemos infinitamente por su apoyo, enseñanzas y dedicación en el tiempo transcurrido en la planta.

Agradecemos también a nuestro tutor: Luis Manuel Salinas Rodríguez por sus buenos deseos, críticas constructivas, consejos y apoyo incondicional en el transcurso de esta tesis, y a todo el grupo de docentes que nos apoyaron a lo largo de nuestra carrera universitaria.

***Gilma Ramírez***

***Manuel Murillo***

## INDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>II. ANTECEDENTES .....</b>	<b>8</b>
<b>III. JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>10</b>
<b>IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....</b>	<b>11</b>
<b>V. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>12</b>
<b>VI. OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
<b>VII. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
7.1 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS (ETA).....	14
7.2 GENERALIDADES DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> O157:H7 Y STEC.....	15
7.3 FACTORES PREDISPONENTES EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA (FINCAS).....	20
7.4 FACTORES PREDISPONENTES EN LA PRODUCCIÓN SECUNDARIA (PLANTAS FAENADORAS).....	24
7.5 EL PAPEL QUE JUEGA EL MÉDICO VETERINARIO .....	26
<b>VIII. MATERIAL Y MÉTODO .....</b>	<b>27</b>
<b>IX. RESULTADOS .....</b>	<b>34</b>
<b>X. DISCUSIÓN.....</b>	<b>36</b>
<b>XI. CONCLUSIÓN .....</b>	<b>39</b>
<b>XII. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>40</b>
<b>XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>41</b>
<b>XIV. ANEXOS.....</b>	<b>47</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Total de muestras positivas a O157:H7.....	56
Tabla 2: Total de muestras positivas a STEC.....	57
Tabla 3: Frecuencia y porcentaje de muestras positivas según procedencia.....	58
Tabla 4: Total de muestras analizadas por mes.....	58

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1: Método N-60 (Selección de cajas a muestrear).....	55
Gráfica 2: Porcentaje de muestras positivas a O157:H7 (1/418).....	57
Gráfica 3: Porcentaje de muestras positivas a STEC (4/418).....	57
Gráfica 4: Porcentaje de muestras analizadas por año (2012, 2013, 2014).....	58
Gráfica 5: Representación de la toma de muestras de los 36 meses evaluados.....	59

## ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1: Toma aérea de la planta.....	55
Imagen 2: Procedimiento para la toma de muestra.....	55
Imagen 3: Medio de empaque para el envío de muestras, bolsas de polietileno (WHIRL-PAK).....	56
Imagen 4: Forma de empackado de cada muestra, cada una contiene 30 piezas de carne, 2 bolsas originales y 1 testigo.....	56

## ABREVIATURAS

**Aw:** Actividad Agua  
**BPM:** Buenas Prácticas de Manufactura  
**CDC:** Centro para la Prevención y Control de Enfermedades  
**CFR:** Código de Regulaciones Federales  
**CH:** Colitis Hemorrágica  
***E. coli:*** *Escherichia coli*  
**ECEH:** *Escherichia coli* Enterohemorrágica  
**ECEI:** *Escherichia coli* Enteroinvasiva  
**ECEP:** *Escherichia coli* Enteropatógena  
**ECET:** *Escherichia coli* Enterotoxigénica  
**ETA:** Enfermedades Transmitidas por los Alimentos  
**FAO:** Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación  
**FSIS:** Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria  
**GHP:** Buenas Prácticas de Higiene  
**H:** Flagelar  
**HACCP:** Análisis de Peligro y Puntos Críticos de Control  
**IPP:** Personal del Programa de Inspección  
**IPSA:** Instituto de Protección y Sanidad Agroalimentaria  
**K:** Capsular  
**MR:** Manosa Resistente  
**MS:** Manosa Sensible  
**O:** Lipopolisacáridos Somáticos  
**OMS/WHO:** Organización Mundial de la Salud  
**PCC:** Punto Crítico de Control  
**PCR:** Reacción en Cadena de la Polimerasa  
**SIC:** Servicio de Inspección de Carnes  
**SSOP:** Procesos Operacionales Estándares de Saneamiento  
**STEC:** *Escherichia coli* productora de la toxina shiga  
**Stx:** Shigatoxina  
**SUH:** Síndrome Urémico Hemolítico  
**TL:** Termolábil  
**TR:** Termosensible  
**USDA:** Departamento de Agricultura de los Estados Unidos  
**VT:** Verotoxinas

## RESUMEN

El servicio de inspección de carnes y los mataderos de Nicaragua realizan pruebas de verificación como parte del programa de muestreo microbiológico y otras actividades de verificación para *E. coli* O157:H7 en productos cárnicos, basándose en hallazgos positivos y aumentos en la detección de este patógeno en EE UU. En este estudio realizado en un matadero industrial de Nicaragua se obtuvo como resultado, 5 muestras positivas de un total de 418 (1.19% de prevalencia). Cuatro corresponden para las cepas STEC (*Escherichia coli* productora de la toxina shiga) (0.96%) y una muestra positiva para la cepa O157:H7 (0.23%). Según la frecuencia en que se reportaron, dos muestras (0.48%) corresponden a la cepa STEC en el mes de octubre de 2012. Para el 2014 se reportan tres positivas (0.71%), dos muestras corresponden al género STEC (0.48%), una en el mes de julio y la segunda en agosto; la última muestra (0.23%) corresponde al género O157:H7 en el mes de agosto. La baja prevalencia de *E. coli* se asocia al tipo de explotación, manejo zoonosanitario, alimentación, edad y el buen papel que realiza el Servicio de Inspección de Carnes dentro de la planta. El 80% de los proveedores de ganado expresan tener una explotación de tipo extensiva y un 20% de tipo semiestabulado. Según el tipo de producción el 20% corresponde a ganadería lechera, 70% doble propósito y un 10% desarrollo y engorde. Según el tipo de alimentación, en el 10% de las fincas se alimenta solo con pasto y en el 90% es de tipo mixta.

Palabras clave: *E. coli* O157:H7, STEC, Productos cárnicos bovinos, Prevalencia, Heces.

## I. INTRODUCCIÓN

*Escherichia coli* es un patógeno emergente asociado a enfermedades transmitidas por alimentos, que puede causar colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopénica. Las cepas producen potentes citotoxinas denominadas toxinas Shiga, las que liberadas en el intestino pasan a la circulación sanguínea y causan daños a nivel del endotelio vascular.

La gravedad de las enfermedades producidas, especialmente cuando afectan a la población infantil, y las bajas dosis infectivas que caracterizan no sólo a los brotes sino también a los casos esporádicos, le han permitido ser clasificado como uno de los patógenos transmitidos por los alimentos de más alto riesgo para la salud pública. El hecho de que el problema continúe ha quedado bien ilustrado en años recientes con estudios de vigilancia en seres humanos, relativos a patógenos transmitidos por la carne tales como *Escherichia coli* O157:H7 y non O157 STEC.

El ganado vacuno es señalado como el principal reservorio de STEC, y la carne picada insuficientemente cocida como el vehículo más frecuente de los brotes. El primer aislamiento descrito en este reservorio fue en Argentina, en 1977, en un ternero de menos de tres semanas de edad con colibacilosis ( Marzocca, Marucci, Sica, & Álvarez, 2006).

Los establecimientos exportadores de carne bovina de Nicaragua y los servicios de inspección gubernamentales, desde septiembre del 2004, han muestreado y analizado la presencia de *Escherichia coli* en los productos de carne y la presencia de este organismo no ha sido reportada, lo cual ha sido verificado en auditorías hechas por los inspectores del Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria/Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

## II. ANTECEDENTES

Los primeros brotes de intoxicación alimentaria ocasionados por STEC se describen en el año 1982 en los EEUU, asociados al consumo de hamburguesa en los diferentes locales de una cadena de comida rápida. A partir de entonces se han descrito numerosos brotes de ETA causadas por este agente a nivel mundial, siendo la carne y sus subproductos los más importantes en su transmisión (Baeza Quiroz, 2014).

En el trabajo de “Aislamiento y caracterización de cepas de *Escherichia coli* productor de shigatoxina desde carne de vacuno nacional e importada, distribuida en los principales supermercados de la provincia de Santiago-Chile” en el período 2012, de un total de 304 muestras de carne bovina analizadas por PCR, se identificó la presencia de STEC en un 6,6% (20/304), de las cuales el 3,4% (3/87) correspondieron a carne bovina nacional y 7,8% (17/217) a carne importada (Baeza Quiroz, 2014).

Los resultados reportados en el estudio sobre “Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de carne molida de bovino en Lima-Perú” entre junio 2009 y enero 2011 indica que se encontró el 1.54% (03) de *E. coli* O157:H7 de 195 muestras de carne fresca molida de bovino (Méndez, Vergaray, Morante, & Flores, 2013).

Según el artículo “Primer aislamiento de *Escherichia coli* non O157 productor de toxina Shiga en carnes bovina y porcina en Venezuela”; de un total de 70 muestras de carne molida evaluadas (35 de res y 35 de cerdo), 50 (71,4%) muestras resultaron positivas al aislamiento e identificación de *E. coli*, solo 3 muestras (4,3%) (2 de carne bovina y 1 de porcina), mostraron contaminación por STEC non O157 (Cardozo, Martinez, Villalobos, & Feng, 2012).

Uno de los brotes más recientes causado por *E. coli* O157:H7 fue reportado el 4 de enero del 2010 en 16 estados de los Estados Unidos. Según los casos reportados por el Centro de Control de Enfermedades (CDC), la carne de vacunos y aves contaminadas por esta cepa ocasionó que 21 personas enfermaran, entre los cuales incluyen 1 caso de un tipo de insuficiencia renal denominado Síndrome Urémico Hemolítico (HUS) y 9 hospitalizaciones (Gonzalez Nuñez, 2011).

En un estudio sobre *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en carnes molidas y chacinados embutidos de Corrientes, Argentina, se identificó un total de 172 cepas *E. coli* (139 de 88 muestras de carnes molidas y 33 de 19 embutidos), proporcionalmente y a pesar del bajo número de embutidos procesados, hubo similares aislamientos de ambos tipos de muestras: 63,3% en carnes molidas y 57,6% a partir de embutidos (Cicuta, Deza, Roibón, Arzú, & Barceló, 2009).

En argentina en el año 2007 se llevó a cabo el estudio “Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche”, se aisló STEC O157:H7 en 3 de las 250 muestras (1,2%) de carne picada y hamburguesas obtenidas de comercios de las ciudades de Santa Fe y Santo Tomé (Roldan, y otros, 2007).

En el año 2004, el estudio de 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, se identificaron 4 muestras positivas para los genes O157, aunque no fue posible aislar al microorganismo portador (Jure, y otros, 2004).

Un estudio realizado en varios frigoríficos de EE.UU. se encontró una prevalencia de *E. coli* O157:H7 ó *E. coli* O157 del 28 % en materia fecal de bovinos antes del sacrificio; 11 % de los cueros y 43 % de las carcasas antes de la evisceración estaban contaminados; solo el 18 % mostró contaminación luego de la evisceración y un 2 % de los recortes fueron positivos a la bacteria (Michanie, 2003).

### **III. JUSTIFICACIÓN**

El motivo por lo que se desarrolló este estudio es por el riesgo que representa la intoxicación por *Escherichia coli* para la salud pública de Nicaragua y el mundo, sumado a esto la importancia que juega la industria de la carne bovina en la economía nicaragüense que hasta el 31 de agosto del 2015, los ingresos generados fueron de 289.10 millones de dólares (CETREX, 2015).

Los resultados obtenidos en este trabajo facilitará a los servicios de inspección y a las plantas procesadoras de carne la toma de decisiones y aplicación de medidas preventivas hacia este problema. Como médicos veterinarios nos ayudará a mejorar situaciones críticas de salud pública y sanidad animal donde se implique este agente, y a la vez ayudará a la economía nacional al aumentar exportaciones ya que se evitaría el cierre de mercados por esta problemática.

#### **IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

No se ha reportado estudio alguno que respaldara el estatus del comportamiento epidemiológico de la bacteria *Escherichia coli* en un matadero industrial de bovinos en Nicaragua. Por tanto, se determinó el estado epidemiológico y los factores que influyen en el comportamiento de *Escherichia coli* enteropatógena en carnes de origen bovino, sabiendo que este microorganismo forma parte de la microflora intestinal de los animales y seres humanos, pero que en dosis infectivas puede ocasionar problemas en la ganadería y en la salud humana.

El no cumplimiento de las normas de higiene e inocuidad (BPM, SSOP, HACCP) representan un peligro por la proliferación de *E. coli*, y el aumento de los resultados positivos, siendo este patógeno responsable de problemas de salud pública en EE.UU asociados a productos cárnicos de origen bovino procedentes de Centro América. Este mismo problema limita el mercado, repercute negativamente en la economía del ganadero y el país en general.

El matadero donde se realizó el estudio es el mayor exportador de carne industrial hacia Estados Unidos y otros países, quienes exigen altas normas de calidad e higiene lo que demanda gran cantidad de recursos económicos, equipos y de personal; esto interfiere en los ingresos que puede percibir la planta, a los ganaderos mismos que deben garantizar un producto de calidad a mayor costo, así también a los organismos de inspección oficiales porque les demanda más personal y horas trabajo.

## **V. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

¿La prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 y STEC en la carne bovina procesada en un matadero de Nicaragua posiblemente sea mayor a la reportada en estudios similares realizados en otros países?

¿Es posible que la contaminación de la carne por *E. coli* sea generada por la mala aplicación de los programas de: BPM, SSOP y HACCP en el matadero?

¿Es posible que la contaminación de la carne por *E. coli* sea generada por las malas prácticas de producción y de sanidad animal?

## **VI. OBJETIVOS**

### 5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar el comportamiento epidemiológico de *Escherichia coli* O157:H7 y STEC detectadas en carne bovina en un matadero de Nicaragua usando la técnica PCR durante el período enero 2012 – diciembre 2014.

### 5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

5.2.1 Evaluar la epidemiología de las cepas *Escherichia coli* patógenas encontradas en muestras de carne bovina analizadas en un matadero de Nicaragua.

5.2.2 Describir los factores que influyen en la presencia de *Escherichia coli* en las muestras de carne bovina.

5.2.3 Verificar la aplicación de los pre-requisitos de manufactura establecidos en la planta procesadora de carne.

## VII. MARCO TEÓRICO

### 7.1 ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR LOS ALIMENTOS (ETA)

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos son aquellas ocasionadas por el consumo de alimentos contaminados con las cantidades suficientes de microorganismos patógenos o de productos de su metabolismo que sean tóxicos para el ser humano; produciendo una serie de síntomas que afectan la salud del consumidor en forma individual o colectiva. Hasta el 2005 se habían descrito más de 250 enfermedades transmitidas por alimentos, la mayoría ocasionada por bacterias, presentes en los alimentos, en cantidades elevadas. Las ETA han ido expandiendo poco a poco por los países del mundo, tanto en desarrollados como en vías de desarrollo, sin respetar fronteras, han causado cuantiosas pérdidas de vidas humanas, como grandes pérdidas económicas (Gonzalez Nuñez, 2011).

Las enfermedades causadas por el consumo de alimentos contaminados con microorganismos patógenos constituyen la mayor causa de morbi-mortalidad en el mundo, uno de ellos es *Escherichia coli* enterohemorrágica (ECEH), considerado como uno de los mayores problemas de salud pública a nivel mundial (Burgos, y otros, 2003).

Los primeros brotes de intoxicación alimentaria se describen en 1982 en los estados de Oregón y Michigan, EE.UU asociado al consumo de hamburguesas en diferentes locales de comida rápida. A partir de entonces, se han descrito numerosos brotes de ETA causadas por este patógeno en distintas partes del mundo como EE. UU, Italia, Alemania, Australia, Japón, Suecia, Chile y Argentina (Acha & Szyfres, 2001), (Baeza Quiroz, 2014).

*Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno emergente asociado a enfermedades transmitidas por alimentos, que puede causar enfermedades severas en el hombre como colitis hemorrágica (CH), síndrome urémico hemolítico (SUH) y púrpura trombocitopénica ( Marzocca, Marucci, Sica, & Álvarez, 2006).

La infección por *E. coli* O157:H7 se teme sobre todo por sus complicaciones. Una de ellas es el síndrome hemolítico-urémico, que en los niños es la principal causa de deficiencia renal aguda y frecuentemente requiere de diálisis y transfusiones. Otra complicación es la púrpura trombocitopénica, caracterizada por trombocitopenia, anemia hemolítica, azotemia y fiebre, así como manifestaciones neurológicas que dominan el cuadro clínico y trombosis de las arteriolas terminales y capilares (Acha & Szyfres, 2001).

## **7.2 GENERALIDADES DE *ESCHERICHIA COLI* O157:H7 Y STEC**

*Escherichia coli* es una bacteria en forma de bastón Gram negativo (bacilo) aerobio o anaerobio facultativo. Pertenece al reino: Monera, filo: Proteobacteria, orden: Enterobacteriales, familia: Enterobacteriaceae, género: *Escherichia*, especie: *E. coli* y el serotipo O157:H7 (Duarte Monteiro, Tedim Pedrosa, & Costa, 2007). Son pequeños no pasan de 2 a 3 micras. Pueden tener o no movilidad, cuando son móviles, su locomoción la realizan por medio de flagelos peritricos. Pueden poseer una cápsula bien definida o una cubierta laxa. Son fermentadoras de glucosa y lactosa (Gonzalez Nuñez, 2011).

Sus cepas forman la mayor parte de la flora comensal del tubo digestivo de animales y humanos, eliminándose por las heces al exterior. Una de las características fundamentales es la capacidad para causar lesiones de adherencia/destrucción en el epitelio intestinal humano y la destrucción de micro vellosidades en el lugar de la adherencia (CFSPH, 2009).

*Escherichia coli* enterohemorrágica produce toxinas, conocidas como verotoxinas o toxinas de Shiga y puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7°C y 50°C, con una temperatura óptima de 37°C. Algunas *Escherichia coli* Enterohemorrágica (EHEC), pueden proliferar en alimentos ácidos, hasta a un pH de 4,4, y en alimentos con una actividad agua (Aw) mínima de 0,95. *E. coli* O157: H7 es el serotipo de EHEC más importante por su impacto en la salud pública, pero hay también otros serotipos frecuentemente implicados en brotes y casos esporádicos (OMS, 2011).

Según la OMS (2011), *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) es una bacteria que puede causar una grave enfermedad de transmisión alimentaria, el origen principal de los brotes de EHEC son los productos de carne picada cruda o poco cocinada, en la mayoría de los casos la enfermedad puede llegar a poner en peligro la vida, por ejemplo cuando da lugar al síndrome hemolítico urémico, especialmente en niños pequeños y ancianos.

#### 7.2.1 ACCIÓN PATÓGENA

Los pili tipo 1 o MS (manosa - sensibles) y probablemente los antígenos O y K se fijan en las células epiteliales del tracto urinario, mientras los pili MR (manosa- resistentes), denominados factores de colonización, facilitan la fijación en las células de la mucosa intestinal. Los antígenos O y K presentan propiedades antifagocitarias e inhibitoras de las sustancias bactericidas del suero y son responsables de la virulencia de las cepas invasivas (Martínez Mazariego & Platero Reyes, 2007), (Máttar, Visbal S., & Arrieta, 2001).

#### 7.2.2 ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

Los antígenos O son la parte más externa de la pared de la célula bacteriana y constan de unidades repetidas de polisacáridos. Algunos polisacáridos O contienen azúcares únicos. Los antígenos O son resistentes al calor y al alcohol, generalmente se detectan mediante aglutinación bacteriana (Martínez Mazariego & Platero Reyes, 2007), (Máttar, Visbal S., & Arrieta, 2001). Los antígenos K pueden interferir con la aglutinación por antisuero O, y a veces se asocian con virulencia. Los antígenos H se localizan sobre los flagelos y se desnaturalizan o retiran mediante calor o alcohol (Martínez Mazariego & Platero Reyes, 2007).

#### 7.2.3 SEROTIPOS DE *E. COLI*

El secretario Tom Vilsack del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en marzo del 2012, emitió un informe que a partir de tal fecha se analizarían 6 nuevas cepas de *E. coli*, para garantizar la seguridad de la población, relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos, los seis serogrupos incluyen:

O26, O45, O103, O111, O121, O145 y serán considerados como adulterantes en las carnes crudas que no esté intacta, incluida la carne molida de res y carne ablandada, si el producto representado en la muestras analizadas de carne cruda contiene alguna de las 6 cepas no se le permitirá al comercio para la venta a los consumidores (Vilsack & USDA-FSIS, 2012). Entre los serotipos descritos de STEC, el O157:H7 es el más prevalente en países como EEUU, Inglaterra, Canadá y Japón y las cepas no O157 son más prevalentes en Latinoamérica, Europa y Australia (Baeza Quiroz, 2014).

#### 7.2.4 LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y EPIDEMIOLOGICAS DE LAS ENTERITIS CAUSADAS POR *E. COLI*

Grupo de *E. coli* enteropatógena (ECEP clásica): La enfermedad se caracteriza por diarrea acuosa, con mucus pero sin sangre visible, fiebre y deshidratación. El período de incubación es corto. La enfermedad se presenta principalmente en países en desarrollo. Se presenta fundamentalmente en las estaciones calurosas (diarrea estival), los niños de grupos socioeconómicos pobres están expuestos a ECEP con frecuencia. Dentro de los principales serogrupos se mencionan los siguientes: O26, O55, O86, O111, O119, O125, O126, O128, O142 (Acha & Szyfres, 2001), (Martínez Mazariago & Platero Reyes, 2007).

Grupo de *E. coli* enteroinvasiva (ECEI), tiene un mecanismo patogénico de invasión de la mucosa como la Shigella, tiene la capacidad de invadir y multiplicarse en las células de la mucosa intestinal especialmente en las del colon. Clínicamente cursa con colitis, dolores intestinales, fiebre, malestar generalizado, mialgia, cefalea y diarrea disenteriforme (moco y sangre). Epidemiológicamente en los países en desarrollo la ECEI es endémica y representa del 1 al 5% de los pacientes con diarrea que acude al médico (Acha & Szyfres, 2001), (Martínez Mazariago & Platero Reyes, 2007).

Grupo de *E. coli* Enterotoxigénica (ECET): Cuenta con un mecanismo patogénico de producción de enterotoxinas: termolábil (LT), termosensible (ST). Clínicamente, la luz intestinal se distiende con el líquido y sobrevienen aumento el peristaltismo, diarrea líquida profusa y náuseas. Epidemiológicamente es frecuente en países subdesarrollados. Generalmente son casos de diarrea del viajero o de origen alimentario por alimentos importados (Acha & Szyfres, 2001), (Martínez Mazariago & Platero Reyes, 2007).

Grupo de *E. coli* Enterohemorrágica (ECEH): Tiene un mecanismo patogénico de eliminación de las microvellosidades de los enterocitos y producción de verotoxinas (VT), sus síntomas son diarrea sanguinolenta, afebril, síndrome urémico hemolítico. En este grupo se incluyen los serogrupos siguientes: O4, O26, O45, O55, O111, O128, O145, O157. Epidemiológicamente es frecuente en países desarrollados, afecta principalmente a niños y ancianos (Acha & Szyfres, 2001), (Martínez Mazariego & Platero Reyes, 2007).

#### 7.2.5 DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La importancia de algunos serotipos puede variar con la región geográfica. El serotipo O157:H7 se ha aislado de brotes en Canadá, Estados Unidos de América y Gran Bretaña. También se ha aislado en África del Sur, Alemania, Argentina, Australia, Bélgica, la antigua Checoslovaquia, China, Holanda, Irlanda, Italia y Japón. Estos aislamientos se hicieron de muestras de materias fecales sometidas a examen en laboratorios de salud pública o de hospitales, provenientes de casos esporádicos de diarrea hemorrágica. Se puede concluir que la presentación es mundial (CFSPH, 2009). Las infecciones por ECEH O157:H7 se producen en todo el mundo, se han informado infecciones en todos los continentes, excepto en la Antártida. Otras ECEH probablemente también estén ampliamente distribuidas (Acha & Szyfres, 2001).

#### 7.2.6 TRANSMISIÓN

Se transmite por vía fecal-oral, se puede propagar entre animales por contacto directo o a través de bebederos, alimentos compartidos, lugares de pastaje contaminados u otras fuentes ambientales. Las aves y las mascotas son vectores potenciales. Los rumiantes especialmente el ganado bovino son los reservorios más importantes de la ECEH O157:H7 (CFSPH, 2009). La *E. coli* O157:H7 se transmite principalmente a los humanos a través del consumo de alimentos y agua contaminados, o por el contacto con animales, heces y suelo contaminado. La mayoría de los casos en humanos han estado vinculados con el contacto directo o indirecto con el ganado bovino, se calcula que la dosis infectiva para los humanos es inferior a 100 organismos y tan poco como 10 (CFSPH, 2009), (Chinen, Deza, Leotta, Miliwebsky, & Rivas, 2006).

El agua de riego contaminada con heces es una fuente importante de contaminación en los vegetales. Las epidemias de ECEH 0157:H7 de origen alimentario generalmente son causadas por la ingesta de productos de origen animal mal cocidos o no pasteurizados, en especial, carne molida pero también otras carnes y embutidos. El periodo de incubación varía de 1 a 6 días. La mayoría de las infecciones se manifiestan después de 3 a 4 días (CFSPH, 2009), (Chinen, Deza, Leotta, Miliwebsky, & Rivas, 2006).

Los animales infectados en forma subclínica pueden eliminar ECEH, ya sea de forma transitoria o intermitente, y los animales que dejaron de excretar este organismo pueden ser colonizados. Los terneros son más propensos a eliminar 0157:H7 que el ganado bovino adulto. *Escherichia coli* 0157:H7 puede permanecer viable por largos períodos en muchos productos alimenticios. Puede sobrevivir durante al menos 9 meses en carne molida almacenada a -20°C, tolera acidez, y permanece infecciosa de semanas a meses en alimentos ácidos (CFSPH, 2009).

#### 7.2.7 SINTOMATOLOGÍA DE *E. COLI* O157:H7 Y STEC EN ANIMALES

Los bovinos adultos se consideran el principal reservorio de *E. coli* enteropatógenos. En la mayoría de los casos la infección es asintomática (Méndez, Vergaray, Morante, & Flores, 2013). Es importante notar que *E. coli* O157: H7 no causa efectos adversos en el ganado. Su presencia en un rebaño o animal individual sólo puede detectarse por pruebas microbiológicas (Butler, Duffy, Engeljohn, Lammerding, & Tompkin, 2006).

La diarrea de los terneros (diarrea blanca de los terneros) es una enfermedad aguda, de alta mortalidad en neonatos de menos de 10 días de edad. Se manifiesta por diarrea grave, materias fecales de color blanquecino y deshidratación rápida. Su curso puede durar de algunas horas a algunos días. Los terneros que no reciben calostro casi siempre son víctimas de la enfermedad (Acha & Szyfres, 2001), (CFSPH, 2009). En los rumiantes, las lesiones por ECEH suelen caracterizarse por inflamación de la mucosa intestinal, y generalmente se limitan al intestino grueso. En algunos casos, existe un exudado fibrino-hemorrágico (CFSPH, 2009).

## 7.2.8 SINTOMATOLOGÍA DE *E. COLI* O157:H7 Y STEC EN HUMANOS

El SUH, descrito por primera vez en 1955 por Gasser et al., es una enfermedad de comienzo agudo con anemia hemolítica microangiopática, plaquetopenia y daño renal, que habitualmente puede seguir o no a un episodio de diarrea con o sin sangre. Las manifestaciones comunes son: palidez, petequias, hematomas, oliguria, edema, hipertensión y cambios neurológicos como letargia o convulsiones. Los que consiguen recuperarse padecen fallas renales, complicaciones neurológicas y otras secuelas por largo tiempo (Deza, Miliwebsky, & Rivas, 2007), (Chinen, Deza, Leotta, Miliwebsky, & Rivas, 2006).

El período de incubación promedio de la infección por STEC es de 3 días (con un rango de 1-8 días) y el cuadro clínico incluye un período de 1 a 2 días de vómitos, fiebre baja o ausente, dolores abdominales severos, diarrea y evidencia de edema en la mucosa del colón como síntomas iniciales, seguidos por diarrea sanguinolenta o colitis hemorrágica durante 4 a 6 días (Deza, Miliwebsky, & Rivas, 2007).

## 7.3 FACTORES PREDISPONENTES EN LA PRODUCCIÓN PRIMARIA (FINCAS)

### 7.3.1 TIPO DE MANEJO EN LA FINCA

Los animales engordados en sistemas de cría intensiva tienen una prevalencia de STEC tres veces superior a la observada en animales alimentados por meses con granos, probablemente debido a alteraciones de la flora normal, el pH y la concentración de ácidos grasos. La capacidad de colonización de *E. coli* O157:H7 en el ganado está influenciada por la dosis infectiva y por la susceptibilidad de los animales (Deza, Miliwebsky, & Rivas, 2007).

El tipo de hato parece tener un efecto en la prevalencia de ECEH: los hatos de ganado en corrales de alimentación (novillos y novillas) tienen mayores probabilidades de ser colonizados con ECEH que los hatos reproductores (vacas y toros). Además, cuando un hato en corral de alimentación tiene resultados seropositivos para ECEH, éste tiene mayores probabilidades de tener un número significativamente mayor de animales colonizados que los hatos reproductores (FAO, OMS, 2004).

Datos de estudios epidemiológicos indican que el estiércol bovino es una fuente importante de infecciones con ECEH. De hecho, *E. coli* O157:H7 ha sido descrita como “ubicua” en el ganado lechero y en el ganado productor de carne y que está presente por lo menos de vez en cuando en la mayoría de las granjas o corrales de alimentación (FAO, OMS, 2004), (Chinen, Deza, Leotta, Miliwebsky, & Rivas, 2006).

Los papeles que desempeñan en la colonización de los hatos tanto el agua de los vertidos utilizados en los riegos de cultivos y piensos, la edad de los animales a los que se administra el pienso, así como el pienso mismo podrían comprobarse como factores críticos para las estrategias de gestión en las granjas y deberían ser investigados más a fondo (FAO, OMS, 2004).

#### 7.3.2 TIPO DE ALIMENTACIÓN

La contaminación de los alimentos con bacterias patógenas requiere de especial atención ya que éstas pueden tener un impacto significativo en los animales destinados al consumo. El uso de derivados animales (productos reciclados de animales y desperdicios de animales) tales como la harina cárnica, la harina de hueso, harina de sangre, harina de plumas, médula ósea y gallinaza seca en los alimento para animales son fuentes probables de microorganismos patógenos entre ellos *E. coli* O157:H7, y patógenos oportunistas (Channaiah, 2013). La contaminación con *E. coli*, incluyendo *E. coli* O157:H7, es de los principales contaminantes bacterianos patógenos en productos para la alimentación animal. Existe preocupación con respecto a la transferencia de estos patógenos de los animales de consumo a los seres humanos a través de la cadena alimenticia (Channaiah, 2013).

#### 7.3.3 EL SEXO Y EDAD DE LOS ANIMALES

La presencia de *E. coli* O157:H7 en las heces de bovinos parece estar influenciada por la edad del animal. Así mismo, existen investigaciones en las que se ha encontrado, que los terneros menores de 8 semanas de edad y novillas excretan esta cepa más a menudo que el ganado adulto (Narváz Bravo, 2007).

La bacteria no es patógena para el ganado, la colonización es de menos de 2 meses de duración y la portación fecal es más frecuente en el ganado joven (2 a 24 meses) que en el ganado adulto (Deza, Miliwebsky, & Rivas, 2007).

#### 7.3.4 MEDIDAS HIGIÉNICAS

Otras formas de transmisión son por contaminación cruzada durante la preparación de alimentos, contacto directo con animales y de persona a persona por la ruta fecal-oral. Hay que tener presente que bajas dosis infectivas de estas bacterias (menos de 100 bacterias por gramo de alimentos) pueden causar la enfermedad (Instituto Salud Pública-Chile, 2012).

*Escherichia coli* O157:H7 por medio de las heces, la piel de los animales, el agua, el suelo, el polvo, los manipuladores, los equipos y utensilios, las manos de los ordeñadores pueden ser fuentes potenciales de estos microorganismos (Patiño Burbano, 2012).

La contaminación fecal del agua puede deberse a la descarga de materia fecal en aguas de recreación o en aguas de pozo que son consumidas sin previo tratamiento de saneamiento (Chinen, Deza, Leotta, Miliwebsky, & Rivas, 2006).

#### 7.3.5 ESTACIONES CLIMÁTICAS

Los brotes alcanzan el máximo número durante los meses más calurosos del año, a raíz del aumento de la portación en el ganado vacuno y en los vehículos de transmisión (Marzocca, Marucci, Sica, & Álvarez, 2006).

Se ha demostrado un incremento temporal en la incidencia de infecciones por *E. coli* O157:H7 tanto en las poblaciones de ganado bovino como en las poblaciones humanas en los meses más calientes del año (FAO, OMS, 2004).

#### 7.3.6 ESTRÉS

El estrés y los largos períodos de transporte, ya sea a las granjas, corrales de engorde o matadero, aumentan la eliminación fecal de EHEC. Los esfuerzos para limitar el estrés del ganado antes de transporte deben ser utilizados para reducir la excreción de EHEC a la llegada del destino (Butler, Duffy, Engeljohn, Lammerding, & Tompkin, 2006).

### 7.3.7 SUMINISTRO DE AGUA DE LAS FINCAS

La contaminación fecal del agua puede deberse a la descarga de materia fecal en aguas de recreación o en aguas de pozo que son consumidas sin previo tratamiento de saneamiento. A pesar de que *E. coli* O157:H7 es susceptible al agua clorada, cuando el mantenimiento desinfectante es inadecuado, pueden llegar a ocurrir brotes debido a un ineficiente sistema de control de las mismas (Chinen, Deza, Leotta, Miliwebsky, & Rivas, 2006).

Según un estudio realizado en algunas comunidades de León, por el equipo del laboratorio de microbiología del agua de Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua-León (2007), encontraron una asociación fuerte de la presencia de *E. coli* en las muestras contaminadas microbiológicamente. El 68.3% de las muestras contaminadas resultaron positivas a la presencia de *E. coli*, también observaron una asociación entre la contaminación microbiana y la presencia de animales consumiendo agua en las pilas cercanas a los pozos.

Por otro lado el 52,3% de la población encuestada refirieron que alguien de la familia padecía de alguna enfermedad renal, enfermedades que suelen ser causadas por múltiples factores entre los que se encuentran la calidad del agua, por ejemplo *Escherichia coli* es una de las bacterias que puede causar infección renal (UNAN-León, 2007).

Según los datos antes mencionados, nos indican que el suministro de agua que recibe el ganado en las fincas, son fuentes de contaminación microbiana como el caso de *Escherichia coli*, debido a las malas prácticas de higiene y en relación a la ganadería de Nicaragua que la mayor parte ha estado en mano de pequeños y medianos productores señala que este problema es a nivel nacional principalmente en las comunidades rurales (UNAN-León, 2007) .

## **7.4 FACTORES PREDISPONENTES EN LA PRODUCCIÓN SECUNDARIA (PLANTAS FAENADORAS)**

### **7.4.1 INSPECCIÓN ANTE-MORTEM**

La recepción de ganado representa riesgo patológico de *E. coli* spp, *E. coli* O157:H7, *E. coli* non O157 (STEC) O26, O111, O121, O45, O103 y O145 por las heces y lodos adheridas a la piel y defecadas en el piso de los corrales, provenientes de animales de diferentes regiones (HACCP-ICSM, 2014).

Además, el transporte a las instalaciones faenadoras, la manipulación durante el transporte, descarga y la interacción con otros bovinos pueden causar estrés y mayor difusión de patógenos (USDA-FSIS, 2011). El bañado de las reses conlleva a riesgo biológico por contaminación de *E. coli* spp, *E. coli* O157:H7, *E. coli* non O157 (STEC) O26, O111, O121, O45, O103 y O145 por diseminación de la presencia de estiércol y lodo en el ganado (HACCP-ICSM, 2014), (USDA-FSIS, 2011).

### **7.4.2 INSPECCIÓN POST-MORTEM**

Todos los animales transportan gran cantidad de microorganismos que están presentes en el cuero, pelos y pezuñas de los vacunos, y son transmitidos a la carcasa luego del sacrificio. Los restos de estiércol suelen acceder al músculo así como el contenido intestinal si la evisceración no se hace cuidadosamente (Carrillo & Audisio, 2007).

La contaminación de la carne de res molida es usualmente una consecuencia de la contaminación fecal que ocurre en el proceso de sacrificio o que no es adecuadamente eliminada durante el mismo. La carne se contamina con ECEH cuando las canales entran en contacto con heces y/o pieles contaminadas durante el sacrificio (FAO, OMS, 2004).

La evisceración representa riesgo biológico a la inocuidad del alimento por posible contaminación de estiércol por ruptura de rumen, intestinos y el mal ligado del esófago y recto (HACCP-ICSM, 2014).

#### 7.4.3 HIGIENE, DESCUERADO Y MANEJO DE LA CANAL

Los cueros de los animales son partes altamente contaminadas y pueden alcanzar hasta  $3 \times 10^6$  bacterias por  $\text{cm}^2$  o más. El cuero/piel y las vísceras de animales que entran a la instalación de sacrificio son fuentes potenciales de contaminación de las canales con bacterias patógenas (FAO, 2007), (USDA-FSIS, 2011), (Butler, Duffy, Engeljohn, Lammerding, & Tompkin, 2006). La contaminación puede ocurrir por contacto directo entre el cuero y la canal y/o indirectamente a través del operario (manos, herramientas) (Brito, Montossi, & Rovira, 2010).

#### 7.4.4 EL LAVADO DE LAS CANALES

El lavado no substituye las GHP (Buenas Prácticas de Higiene) durante el sacrificio y el faenado porque puede diseminar bacterias más que reducir la cantidad total (FAO, 2007).

#### 7.4.5 ALMACENAMIENTO (CUARTOS FRÍOS)

El no bajar la temperatura interna rápidamente resultará en multiplicación rápida de bacterias dentro de la carne resultando en malos olores y manchado del hueso (HACCP-ICSM, 2014), (FAO, 2007). No se debe llenar el cuarto frío más de lo especificado por el fabricante y se deben dejar espacios entre las canales para que circule el aire frío. De otra manera el enfriado será ineficiente y la superficie de la canal permanecerá mojada favoreciendo el rápido crecimiento bacteriano (FAO, 2007).

#### 7.4.6 HIGIENE DEL PERSONAL

En cualquier proceso de producción de alimentos, la contaminación de un producto se puede originar de los animales, del entorno, o del personal involucrado en la operación. Los seres humanos pueden sufrir enfermedades que pueden ser transmitidas a otros a través de la carne, o pueden involuntariamente portar agentes patógenos (FAO, 2007). Hay muchos organismos que viven dentro y fuera de nuestro cuerpo, los cuales no causan enfermedad alguna en él, su ambiente natural. Sin embargo, si estos organismos se encuentran en o sobre los alimentos, pueden proliferar y producir toxinas que pueden subsecuentemente causar serias enfermedades en el confiado consumidor (FAO, 2007).

#### 7.4.7 VESTIMENTA DE LOS OPERARIOS

La vestimenta personal puede portar microorganismos que hayan sido recogidos de una amplia variedad de fuentes al entorno donde se procesan los alimentos (FAO, 2007).

#### 7.4.8 HIGIENE DE LA PLANTA

Durante el faenado de la canal, esta se expone a contaminación del entorno del matadero, incluyendo los implementos usados y las manos de los operarios por una variedad de microorganismos que están presentes en el ambiente de los mataderos. Estudios en mataderos indican que los recuentos de bacterias patógenas en los implementos utilizados pueden variar en cada utensilio, dependiendo de su limpieza y desinfección regulares, las fundas de los cuchillos tienen el mayor número de microorganismos (FAO, 2007), (Carrillo & Audisio, 2007).

### **7.5 EL PAPEL QUE JUEGA EL MÉDICO VETERINARIO**

El papel de los Servicios Veterinarios se ha extendido de manera tradicional de la finca al matadero, lugar en que los Médicos Veterinarios tienen una doble responsabilidad: la vigilancia epidemiológica de las enfermedades y la supervisión de la seguridad sanitaria e idoneidad de la carne. La educación y la formación de los Médicos Veterinarios, que incluye tanto la sanidad animal (incluyendo las zoonosis) como los componentes de la higiene de los alimentos, les confiere bases para ejercer un papel central para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos, especialmente de los alimentos de origen animal (Slorach & OIE, 2008).

## **VIII. MATERIAL Y MÉTODO**

### **8.1 UBICACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO**

El presente trabajo se realizó en un Matadero Industrial de bovinos, ubicado en el municipio de Nandaime, Km 67 ½ Carretera panamericana sur, con coordenadas: 11°45'47.04" Latitud Norte y 86°02'44.02" Latitud Oeste y una elevación 142 msnm y precipitaciones anuales entre 1.200 a 1.400 mm<sup>3</sup>. La planta colinda al Norte: Barrio Arlen Siu, Sur: Barrio Oscar Turcios, Este: Finca David Aguilar y al Oeste: Carretera Panamericana Sur (HACCP-ICSM, 2014), (Imagen N° 1).

### **8.2 DESCRIPCIÓN DEL LUGAR DE TRABAJO**

El entorno inmediato (Perímetro) de la planta cuenta con 3.50 manzanas, siendo media manzana aéreas verdes las cuales se encuentran arborizadas. Dispone de condiciones sanitarias adecuadas (como pilas sépticas, drenajes, pediluvios, etc.) de calles y caminos adoquinados. La planta cuenta con 4,419.21 m<sup>2</sup> de área de construcción para los procesos de producción y 1,348.59 m<sup>2</sup> de construcción para las áreas de servicio (Contabilidad, Administración, Bodegas de Materiales, Comedor, Lavandería, otros) (HACCP-ICSM, 2014).

Existen controles de desechos líquidos y sólidos, con unos controles de plagas adecuados y animales domésticos vagabundos (roedores, perros, gatos, moscas, cucarachas, etc.). Las paredes de los edificios son construidas a base de concreto reforzadas, estructuras metálicas y paneles térmicos de poliuretano lo que facilita el saneamiento de la planta. Entre las edificaciones están las áreas de proceso (sacrificio, deshuese, chillers, freezers, bodegas de productos terminados y rendering), y planta administrativa (HACCP-ICSM, 2014).

### **8.3 TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO**

Este es un estudio epidemiológico descriptivo de tipo transversal retrospectivo sobre el agente infeccioso *Escherichia coli* en carne bovina en un matadero de Nicaragua. En este trabajo se evaluó el comportamiento epidemiológico (prevalencia, frecuencia, y procedencia de los lotes positivos) así se verificó los factores de producción primaria y procedimientos de manufactura de la carne dentro de la planta. El período del estudio comprende desde enero 2012 a diciembre 2014, donde se analizaron los resultados de muestreo *E. coli* O157:H7 y STEC obtenidos en el Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario y Microbiológico de los Alimentos del Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA).

Durante el proceso de estudio se hizo observación de los procedimientos del servicio de inspección de carnes (SIC), donde se verificaron todas las etapas de inspección veterinaria ante-mortem y post-mortem. Así mismo la aplicación de las buenas prácticas de manufactura, los procedimientos operacionales de saneamiento y la verificación de los puntos críticos de mayor riesgo de contaminación de la carne (canal). Aquí se incluye el manejo del ganado dentro de la planta y análisis microbiológico del producto terminado. Para la respectiva evaluación se le asignó valores nominales de: Conforme, No Conforme y No aplica, acorde al reporte final de las auditorías realizadas por los países importadores.

### **8.4 UNIVERSO Y MUESTRA**

#### **8.4.1 DETERMINACIÓN DEL UNIVERSO**

El universo de estudio se conformó por 3, 114,825 cajas de 27.27 kg (60 libras) equivalentes a 17,799 sub-lotes, estos representan 84, 949,772.73 kg de carne (186, 889,500 libras) obtenidas del sacrificio de 622,965 animales.

#### 8.4.2 DETERMINACIÓN DE LA MUESTRA

La muestra está comprendida por 418 sub-lotes que fueron enviados al laboratorio oficial del IPSA aprobado por USDA-FSIS para su respectivo análisis, esto durante el período de enero 2012 a diciembre 2014.

Según el protocolo de muestreo y calendario de muestras de *E. coli* O157:H7 y STEC, el establecimiento en estudio debe cumplir con una cantidad de muestras de *E. coli* O157:H7 y STEC anualmente, determinándose para dicho cumplimiento el envío de muestra de un sub-lote tomado al azar de la producción de deshuese los días miércoles establecido por IPSA. Esta muestra es para análisis de verificación de *E. coli* O157:H7 o STEC en el Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario y Microbiológico de los Alimentos oficial del IPSA (IPSA & USDA-FSIS, 2012).

Para la obtención de las muestras en el matadero se utiliza el método llamado N-60 aprobado por el USDA, que es un muestreo probabilístico de tipo conglomerado. Para este método un lote de producción es el total de carne procesada en un mismo día y se divide en sub-lotes que son equivalentes a 4,772.72 kg (10,500 libras) o 175 cajas de 27.27 kg (60 libras) cada una, identificados con las letras del alfabeto en mayúscula en dependencia del número de sub-lotes de producción del día (IPSA & USDA-FSIS, 2012).

Las muestras de un sub-lote comprenden 60 piezas de carne de 8 cm (3 pulgadas) de largo, 2.54 cm (1 pulgada) de ancho y 0.32 cm (1/8) de grosor, las muestras son seleccionadas a partir de 60 cajas de 27.27 kg (60 libras) cada una de un sub-lote de 175 cajas. Para poder obtener las 60 piezas de carne, hay que tomar la muestra dos cajas de por medio que se pesen en la báscula. Muestrear la primera y la última caja, esto dará a 59 cajas y se añade la penúltima para completar las 60 cajas (IPSA & USDA-FSIS, 2012), (Imagen N° 2 y Gráfica N° 1).

Colocar las 60 piezas de carne en dos bolsas polietileno (30 piezas de carne en cada bolsa) la muestra debe pesar aproximadamente 375 g ( $\frac{3}{4}$  de libra), y coleccionar una muestra adicional en una tercera bolsa 568 g (1 libra y  $\frac{1}{4}$ ) como contra muestra, las 3 bolsas deben pesar aproximadamente 907 g (2 libras) (IPSA & USDA-FSIS, 2012), (Anexo, Imagen N° 3 y 4).

#### 8.4.3 ENVÍO DE LAS MUESTRAS

Las muestras deben ser bien identificadas y mantenerse a una temperatura entre 0 a 4 °C para su posterior envío al laboratorio. Estas se enviaban con una hoja de remisión con todos los datos que representa la muestra (sub-lote, temperatura del producto, fecha de sacrificio y deshuese, hora de toma, fecha de envío, tipo de corte y el número de serie de las cajas) firmada por el Médico Veterinario oficial y el inspector auxiliar que tomó la muestra (IPSA & USDA-FSIS, 2012).

#### 8.4.4 ANÁLISIS LABORATORIAL DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de la planta autorizado por el IPSA y se envía un muestra de verificación de *E. coli* O157:H7 y STEC una vez por semana al Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario y Microbiológico de los Alimentos (LNDVMA) del Instituto de Protección de Sanidad Agropecuaria y aprobado por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (IPSA & USDA-FSIS, 2012).

El tipo de prueba utilizado para el análisis de las muestras en el laboratorio es DuPont Qualicon BAX® System Real-Time PCR, creado por DuPont™, y validado por el USDA-FSIS. Este método es aplicable para la detección de patógenos *E. coli* de los serogrupos O26, O45, O103, O111, O121 y O145 en ajuste de carne. El método puede ser utilizado en conjunción con el método de BAX RT para la detección de *E. coli* O157: H7 en la carne de vacuno.

El Sistema BAX amplifica fragmentos de ADN específicos únicos para serogrupos STEC patógenos utilizando reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Inicialmente, los organismos se les permiten crecer en BAX sistema MP enriquecimiento medio, seguido por análisis de PCR para la presencia de los genes *eae* y *stx*. Las muestras positivas para genes *eae* y *stx* deben someterse a un análisis más detallado de PCR específicos para los serogrupos STEC patógenos (específica genes *wzx*).

## 8.5 DEFINICIÓN DE VARIABLES

### Prevalencia

Definición: Número total de casos existentes de una enfermedad en un período de tiempo y población determinada.

Escala: 0 a 100%.

Fórmula: casos positivos x 100 ÷ total de muestra.  $5 \times 100 \div 418 = 1.19\%$

### Frecuencia

Definición: Cifras absolutas o relativas para cuantificar, medir, valorar, comparar fenómenos de salud, enfermedad, producción en poblaciones humanas o animales.

Escala:  $\geq 1$

### Producción primaria (Fincas)

Definición: Todas las etapas en la cadena productiva del alimento que constituyen la producción animal y el transporte de animales al matadero, o caza y transporte de fauna silvestre a un depósito de fauna.

Escala: Buena calidad o Mala calidad.

### Producción secundaria (Matadero)

Definición: Cualquier establecimiento donde animales específicos son sacrificados y faenados para el consumo humano y que está aprobado, registrado y/o listado por la autoridad competente para tales propósitos.

Escala: Conforme, No Conforme, No Aplica.

## **8.6 FUENTE DE INFORMACIÓN**

Se verificó in situ el cumplimiento de los pre-requisitos de buenas prácticas de manufactura (BPM), el procedimiento operacional estándar de saneamiento (SSOP) y el análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP).

Se realizaron prácticas profesionales y visitas posteriores en el matadero donde se realizó el estudio para verificar la aplicación de los procedimientos de manufactura y servicios de inspección veterinaria. Se realizaron entrevistas a los responsables del Servicio de Inspección de Carnes (SIC), del Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria (IPSA) a cargo del Dr. Norman Castellón Maltez, Médico Veterinario Oficial del establecimiento y Lic. Manuel Reyes Cerda, inspector oficial auxiliar, encargado de la toma de muestras para identificación de *E. coli* O157:H7 y STEC. También se usó como recurso para obtener información la aplicación de encuestas a los ganaderos abastecedores de la planta.

## **8.7 RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN**

Para la realización de este trabajo se tomaron de referencias los resultados de análisis del Laboratorio Nacional de Diagnóstico Veterinario y Microbiológico de los Alimentos de todas las muestras de *E. coli* O157:H7 y STEC enviadas desde enero 2012 a diciembre 2014, disponibles en la oficina de inspección veterinaria del establecimiento donde se realizó el estudio.

Dichos resultados fueron digitalizados utilizando el programa de Microsoft Excel, en orden cronológico por fechas de producción con las variantes siguientes: código de laboratorio, sub-lote muestreado, fecha de emisión, temperatura del producto, fecha de toma de muestra, total de muestras por mes y año, total de casos positivos para *E. coli* O157:H7, non STEC y números de animales sacrificados por mes. En los casos positivos se tomaron los códigos de trazabilidad correspondiente a cada lote para conocer su procedencia.

Se aplicó una encuesta a los proveedores de materia prima del matadero tomando de referencia los formatos que aplican los veterinarios de la oficina de sanidad animal durante sus visitas de vigilancia epidemiológica, para conocer el estatus de su finca y ganado (Anexo N° 2).

Para verificar los factores de producción secundaria dentro de la planta se contó con la ayuda del Personal de Inspección de Carnes del IPSA que se encargan de la verificación, aplicación y cumplimiento de las medidas higiénicas sanitarias según lo establecido en reglamento de inspección sanitaria de la carne para establecimientos autorizados. Se tomaron datos de los resultados de inspecciones federales o auditorías realizadas por el FSIS-USDA y de otros países importadores, quienes hacen evaluaciones de estos procedimientos (Anexo N°3).

## **8.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis estadístico de los datos sobre la prevalencia de *E. coli* en un matadero industrial en Nicaragua, se utilizó el programa estadístico SPSS versión 19.0 donde se analizó la estadística descriptiva. Los resultados se representan en tablas de frecuencias, tablas de proporciones, gráficos de barras y gráficos de sectores.

Se consideró la prevalencia y frecuencia de la infección por *E. coli* en carne por mes, por año y en los casos positivos incluimos la región de procedencia del ganado faenado y la época del año en que se detectó. Así mismo se identificó la cepa de *E. coli* presente en la carne.

## IX. RESULTADOS

Al finalizar el análisis estadístico del estudio se encontraron 5 casos positivos de 418 muestras de productos cárnicos analizadas en el período de enero 2012 a diciembre 2014, equivalente a una prevalencia total de 1.19% (5/418). Según los serogrupos encontrados, la prevalencia para las cepas O157:H7 fue de 0.23 % (1/418) y para las cepas STEC de 0.96% (4/418), (Tabla N° 1, 2 y Gráfica N° 2 y 3).

En la determinación de la frecuencia los datos encontrados se corresponden a: Dos muestras al mes de octubre del 2012 equivalentes a 0.48% (2/418). Para el 2014 la frecuencia de casos equivale al 0.71% (3/418); 1 muestra positiva corresponde al mes de julio para una frecuencia de 0.23% (1/418) y 2 muestras al mes de agosto para una frecuencia de 0.48% (2/418). Los sub-lotes positivos según su procedencia corresponden a: dos casos a RAAN (0.48%) y para Chontales, Boaco y Rio San Juan un caso respectivamente (0.237% c/u), (Tabla N° 3).

Según los resultados de los 3 años de estudio, se obtuvo para el año 2012 el mayor número de sub-lotes muestreados con 225, seguido por el año 2014 con 111 sub-lotes muestreados y por último el año 2013 con 82 sub-lotes muestreados. Con respecto a los meses, se analizaron 44 muestras en el mes de agosto 2014, 42 muestras para el mes de noviembre del 2012 y 3 muestras analizadas en el mes de marzo 2013 (Gráfico N° 4, 5 y tabla N° 4).

Con respecto a las variables sobre la producción primaria, se encontró que un 80% de las fincas tienen una explotación de tipo extensiva y un 20% tipo semiestabulado. Según el tipo de producción el 20% corresponde a ganadería lechera, 70% doble propósito y un 10% cría, desarrollo y engorde.

El tipo de alimentación suministrada al ganado bovino, en el 10% de las fincas se alimenta solo con pasto y el 90% con una alimentación mixta de pasto, melaza y sales minerales. El concentrado es utilizado en casos excepcionales, por ejemplo en animales convalecientes.

Del 100% de las fincas, el 90% de los propietarios indican que suministran agua de río al ganado bovino y el 10% de pozos artesanales, lo que indica que el agua suministrada posiblemente no cumpla con los requerimientos para considerarla potable. A esto se suma la no utilización de métodos para potabilizar el agua.

Otra variable descrita fue el estrés del ganado que llega al matadero, de esto el 80% de los propietarios manifiestan que el ganado sufre un estrés muy alto debido al largo período de tiempo asociado a las grandes distancias y malos caminos que deben recorrer para poder llegar a dicho matadero, el 20% manifestaron que los niveles de estrés son bajos. Esto se pudo comprobar al momento de hacer la recepción del ganado o durante la inspección ante-mortem, donde era evidente observar el comportamiento, desorientación y letargia, así mismo presencia de lesiones y disminución o apatía para el consumo de agua. Además el ganadero expresaba que al momento de pesar su ganado el peso era mucho menor al registrado al momento de embarque. Durante la inspección post-mortem se pudo comprobar la disminución del rendimiento de la canal respecto al peso vivo y las condenas de cortes de carne por traumatismos.

En la verificación de la aplicación de BPM, SSOP, HACCP e Inspección Veterinaria en la producción secundaria que pueden influir en la prevalencia de *E. coli* en carnes bovina, se consideraron las evaluaciones emitidas por los auditores de los países importadores de carne bovina de Nicaragua, quienes consideran que el establecimiento está catalogado como un matadero de alta calidad con respecto a la buena aplicación de los programas de higiene e inocuidad, datos constatados según las auditorías realizadas por el FSIS-USDA 2014 y el SAG-HONDURAS 2015. Así mismo se consideraron las recomendaciones emitidas en dichas auditorías.

## X. DISCUSIÓN

En el análisis resultaron positivas 5 muestras de 418 que representa una prevalencia de 1.19 %, similar a lo descrito por Roldan, y otros (2007) que encontraron una prevalencia de 1.20 % de STEC O157:H7 en 3 de las 250 muestras de carne picada y hamburguesas obtenidas de comercios de las ciudades de Santa Fe y Santo Tomé, de Argentina.

Los resultados de la prevalencia de *Escherichia coli* O157:H7 y STEC a partir de productos de carnes es baja, muy parecida a los resultados obtenidos por Burgos, y otros (2003) que detectaron la presencia de genes de shigatoxinas en el 0,89% (2/226) de las muestras de canales bovinas nacionales faenadas en la Región Metropolitana de Chile. Con estos resultados se da respuesta a la pregunta planteada de que la prevalencia de *E. coli* en un matadero de Nicaragua podía ser mayor a la reportada en estudios similares en otros países.

Esta prevalencia 1.19% (5/418) encontrada durante el estudio es relativamente baja con respecto a otros estudios similares que han encontrado altas prevalencias 6,6% en muestras analizadas que fueron positivas para STEC, Baeza Quiroz (2014).

El serotipo más frecuente identificado de las muestras positivas fueron las cepas de STEC con 4 muestras que representa un 0.96% y 1 muestra para la cepa O157:H7 con un 0.23%. Coincidiendo con lo citado por Baeza Quiroz, (2014) que entre los serotipos descritos el O157:H7 es el más prevalente en países como EEUU, Inglaterra, Canadá y Japón y las cepas no O157 (STEC) son más prevalentes en Latinoamérica, Europa y Australia.

Los meses en que se identificaron las muestras positivas fueron Octubre (2 sub-lotes positivos), Julio (1 sub-lote positivo) y Agosto (2 sub-lotes positivos), siendo meses de la época lluviosa en nuestro país, lo que difiere con lo citado por Marzocca, Marucci, Sica, & Álvarez, (2006) y FAO, OMS (2004) que los brotes alcanzan el máximo número durante los meses más calurosos del año en Argentina, a raíz del aumento de la portación en el ganado vacuno y en los vehículos de transmisión.

Los resultados se asemejan con los mencionados en el estudio “Vigilancia de laboratorio de *E. coli* productora de Toxina Shiga” realizado por el Instituto Salud Pública de Chile (2012) donde el mayor número de cepas se alcanzó en el mes de noviembre (12 muestras positivos), y la menor cantidad de cepas en julio (1 muestra positiva).

En lo que respecta a la producción primaria, los factores como el tipo de manejo y alimentación a base de pastos que recibe la ganadería nicaragüense, influyó en la baja prevalencia del estudio, porque según lo citado por Deza, Miliwebsky, & Rivas (2007) los animales engordados en sistemas de cría intensiva tienen una prevalencia de STEC tres veces superior a la observada en animales alimentados por meses con granos, probablemente debido a alteraciones de la flora normal, el pH y la concentración de ácidos grasos.

A pesar que el ganado bovino procedente de las diferentes regiones del país no recibe un buen manejo zoonosanitario, no se practican buenas medidas higiénicas en las fincas y el agua de consumo no es potable, tampoco influyó en el mayor número de casos para *Escherichia coli* enteropatógena, lo que difiere con lo citado por CFSPH (2009), que esta enterobacteria se puede propagar entre animales por contacto directo o a través de bebederos, alimentos compartidos, lugares de pastaje contaminados u otras fuentes ambientales y también por lo mencionado por Patiño Burbano (2012), que las heces, la piel de los animales, el agua, el suelo, el polvo, los manipuladores, los equipos y utensilios, las manos de los ordeñadores pueden ser fuentes potenciales de *Escherichia coli* 0157:H7.

El tipo de alimentación que recibe el ganado influye según lo citado por (FAO, OMS, 2004) en la colonización de los hatos por *Escherichia coli*, tanto el agua de los vertidos utilizados en los riegos de cultivos y piensos, la edad de los animales a los que se administra el pienso, así como el pienso mismo podrían comprobarse como factores críticos. Esto en el estudio se vio reflejado en la baja prevalencia y los datos de encuesta aplicada a los ganaderos, ya que la mayor parte del ganado que envían al matadero es alimentado a base de pasto combinado con melaza, concentrado y sales minerales y la edad promedio de matanza es mayor de 30 meses.

Con respecto a la edad de los animales que llegan al matadero, el 90.45% son mayores de 30 meses lo cual influyó positivamente en la baja prevalencia, coincidiendo con lo citado por Deza, Miliwebsky, & Rivas (2007) que la portación fecal es más frecuente en el ganado joven (2 a 24 meses) que el ganado adulto.

La prevalencia encontrada según los análisis laboratoriales está influenciada por la correcta aplicación de los programas pre-requisitos (BPM, SSOP), del plan HACCP, y el trabajo eficiente por parte del Servicio de Inspección de Carne en el establecimiento donde se realizó el estudio. El cumplimiento de estos requisitos garantiza el procesamiento de la carne bajo las normas de higiene e inocuidad, haciendo frente a las malas prácticas ganaderas que recibe el ganado bovino en las fincas y durante el transporte al matadero.

## **XI. CONCLUSIÓN**

Se decidió analizar los datos de los resultados del laboratorio de las muestras de *E. coli* O157:H7 y STEC en carnes bovinas, debido a que dicho agente patógeno es considerado como muy peligroso para la salud pública en los países importadores de carne incluyendo Nicaragua, siendo este último, el país mayor productor de carne en Centroamérica y con un amplio mercado a nivel mundial, según los resultados del estudio se reporta una baja prevalencia de *E. coli* a pesar de las malas prácticas de manejo que recibe el ganado bovino, considerado como el principal reservorio de este microorganismo.

Una de las principales razones de esta prevalencia se debe al sistema de inspección de carne realizada por inspectores y médicos veterinarios oficiales del IPSA, los cuales se rigen al reglamento de inspección de carne y a los requisitos expuestos por los países a los cuales se exporta dicho producto. La baja prevalencia de *E. coli* reportada en este estudio, deja en evidencia que cepas de STEC y O157:H7 circulan en productos cárnicos procesados en los mataderos nicaragüenses.

También es importante hacer énfasis al compromiso que ha tomado el personal de la planta procesadora de carne bovina, implementando y aplicando correctamente los pre-requisitos BPM, SSOP y sistema HACCP catalogados como muy buenos para garantizar un producto de alta calidad e inocuidad que no hará daño ni comprometerá la salud de los consumidores.

Con estos resultados se espera manifestar la calidad e inocuidad que deben tener y los requisitos que se deben cumplir para producir carne bovina, ya que esta juega un papel importante en la prevalencia de *E. coli* O157:H7 y STEC, y así poder tomar las medidas pertinentes evitando posibles brotes de enfermedades producidas por este agente, y de esta manera mantener abiertos los mercados internacionales de exportación y mejorar los ingresos económicos del país.

## **XII. RECOMENDACIONES**

Presentado los resultados obtenidos del análisis del comportamiento epidemiológico de *Escherichia coli* en carnes bovinas, se sugieren las siguientes recomendaciones:

Los mataderos que procesan carne bovina para exportación o venta nacional tomen compromiso de brindarles charlas a los ganaderos abastecedores de materia prima, sobre la importancia de la aplicación de las buenas prácticas ganaderas en la producción de su ganado.

Promover en conjunto con las autoridades competentes la aplicación de los programas de trazabilidad bovina para asegurar un mejor control del ganado y la carne bovina desde la finca al matadero, ayudando a garantizar un producto inocuo al consumidor.

Cumplir con las recomendaciones que dejan los auditores exteriores e internos que son la base fundamental en la producción y exportación de carne bovina.

Tomar el compromiso de trabajar de la mano con el servicio de inspección de carne aplicando correctamente las BPM, SSOP y el plan HACCP. Así mismo cumplir con los avisos, notificaciones y con el código de regulaciones federales para garantizar el procesamiento de la carne bajo condiciones salubres, y así evitar la contaminación de las canales y productos cárnicos terminados, como lo indica la directiva FSIS 6420.2, el 9CRF capítulo 416 y 417.

Por parte del ganadero que trate de mejorar cada día, en las prácticas de producción primaria para garantizar a su ganado un suministro de alimento y agua de mejor calidad y brindar un buen manejo zoonosanitario para así poder hacerles frentes a brotes de enfermedades no esperadas.

### XIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Butler, F., Duffy, G., Engeljohn, D., Lammerding, A., & Tompkin, R. (3-7 de Abril de 2006). *Actividades Conjuntas FAO / OMS Sobre Evaluación de Riesgos de Peligros Microbiológico en los Alimentos*. Recuperado el 20 de Noviembre de 2014, de <http://www.fao.org/fileadmin/templates/agns/pdf/jemra/Ecoli.pdf>
- Marzocca, M., Marucci, P., Sica, M., & Álvarez, E. (Marzo de 2006). Detección de *Escherichia coli* O157: H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. *Revista Argentina de Microbiología*, 38.
- Acha, P. N., & Szyfres, B. (2001). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales* (3 ed., Vol. I). Washington, D.C, EEUU.
- Baeza Quiroz, C. (1 de Abril de 2014). *Red Chilena de Instituciones Formadoras en Salud Pública*. Recuperado el 9 de Noviembre de 2014, de Escuela de Salud Pública Facultad de Medicina Universidad Mayor.: <http://www.saludpublicachile.cl:8080/dspace/handle/123456789/382>
- Brito, G., Montossi, F., & Rovira, P. (Diciembre de 2010). Los desafíos del control de *Escherichia coli* O157:H7 en la cadena cárnica: una responsabilidad compartida. *Sitio Argentino de Producción Animal*(23).
- Brusa, V., Palacios, M., Loup, V., Copes, J., Pineda, G., Brocardo, S., . . . Leotta, G. (2009). *Evaluación de un sistema de PCR en tiempo real para la detección de Escherichia coli O157:H7 a partir de carne bovina molida*. Recuperado el 5 de Noviembre de 2014, de Universidad Nacional de La Plata: <http://www.medica-tec.com/chi/files/Trabajo%20Univ.%20La%20Plata.pdf>

- Burgos, M., Martínez, M., Barria, B., Pérez, M., Vaquero, A., Ulloa, M., . . . Fuentes, D. (2003). *Estudio de prevalencia de Escherichia coli enterohemorrágica en canales vacunos faenados en la región metropolitana, Chile*. Recuperado el 15 de Noviembre de 2014, de Avances En Ciencias Veterinarias. Facultad de ciencias veterinarias y pecuarias. Universidad de Chile.: <http://www.revistas.uchile.cl/index.php/ACV/article/view/9200>
- Cardozo, L., Martínez, R., Villalobos, L., & Feng, P. (Diciembre de 2012). Primer aislamiento de Escherichia coli no O157 productor de toxina Shiga en carnes bovina y porcina en Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 32(2).
- Carrillo, L., & Audisio, M. C. (2007). Carnes Rojas. En *Manual de Microbiología de los Alimentos* (1ª ed., págs. 1-191). San Salvador de Jujuy, Argentina.
- CETREX. (02 de Septiembre de 2015). *Frias exportaciones*. (Y. López, Editor) Recuperado el 2015 de Octubre de 10, de <http://www.laprensa.com.ni/2015/09/02/economia/1894051-exportaciones-no-dejan-de-caer>
- CFSPH. (2009). *E. coli enterohemorrágica*. College of Veterinary Medicine Iowa State University, The Center for Food Security y Public Health.
- Channaiah, L. H. (19 de Febrero de 2013). *Inocuidad de los alimentos balanceados para animales: riesgos y desafíos*. Recuperado el 8 de Abril de 2015, de Sitio Avícola: <http://www.elsitioavicola.com/articles/2319/inocuidad-de-los-alimentos-balanceados-para-animales-riesgos-y-desafios/>
- Chinen, I., Deza, N., Leotta, G., Miliwebsky, E., & Rivas, M. (2006). *Epidemiología del Síndrome Urémico Hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorios y vías de transmisión*. Recuperado el 20 de Marzo de 2015

- Cicuta, M., Deza, N., Roibón, W., Arzú, O., & Barceló, M. (2009). *Producción Animal*. Recuperado el 17 de Febrero de 2015, de [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/carne\\_y\\_subproductos/117-Escherichia-Cicuta.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/117-Escherichia-Cicuta.pdf)
- Deza, N., Miliwebsky, E., & Rivas, M. (2007). *Manual de Procedimiento Diagnóstico y caracterización de Escherichia coli O157 productor de toxina Shiga a partir de especímenes clínicos*. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para America del Sur, Departamento Bacteriología, Argentina.
- Duarte Monteiro, A. L., Tedim Pedrosa, A. S., & Costa, M. T. (2007). *Las toxinas shiga - como E. coli O157:H7*. Recuperado el 08 de Septiembre de 2015, de <https://sites.google.com/site/ecolio157toxins/home>
- FAO. (2007). *Buenas Práctcas para la Industria de la Carne*. Roma, Italia.
- FAO, & OMS. (2009). *Codex Alimentarius Producción de alimentos de origen animal*. Roma, Italia.
- FAO, OMS. (2004). *Documento de Debate Sobre el Perfil de Riesgos para Escherichia coli Enterohemorrágica, incluida la Identificación de los Productos Básicos de Interés, entre ellos la Semillas Germinadas y la Carne Molida de Res y Puerco*. Washington DC.
- Gonzalez Nuñez, E. R. (Julio de 2011). *Identificación de Escherichia coli diarreogénicas en muestras clínicas (heces) y de alimentos en estado de sinaloa*. Recuperado el 10 de Octubre de 2015, de <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/12080>
- HACCP-ICSM. (2014). *Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control*. HACCP-Industrial Comercial San Martin Nandaime.
- Instituto Salud Pública-Chile. (Mayo de 2012). Vigilancia de laboratorio de E. coli productora de Toxina Shiga. *Boletín Instituto de Salud Pública de Chile*, 2(7), 1-18.

- IPSA, & USDA-FSIS. (2012). *Protocolo de Muestreo de Rutina y Verificación de E. coli O157:H7 y E. coli non O157 STEC (O26, O45, O103, O111, O121, Y O145) en Productos Cárnicos de Res de la Republica de Nicaragua*. Instituto de Protección y Sanidad Agropecuaria, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.
- Jure, M., Condorí, S., Leotta, G., Chinen, I., Miliwebsky, E., Allori, C., . . . De Castillo, M. (Septiembre-Diciembre de 2004). Detección, aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga a partir de carne molida fresca. *Revista Argentina de Microbiología SCIELO*, 42(4), 287.
- Martínez Mazariego, S. M., & Platero Reyes, L. A. (2007). *Determinación de Escherichia coli O157:H7 en carne molida de res cruda, comercializada en supermercados del área Metropolitana de San Salvador, período 2007*. San Salvador.
- Máttar, S., Visbal S., J., & Arrieta, G. (2001). *E.coli O157: H7 enterohemorrágico: un agente etiológico de diarrea y zoonosis en Colombia subestimado, Parte I. MVZ-CORDOBA*. Recuperado el 10 de Junio de 2015
- Méndez, C., Vergaray, G., Morante, H., & Flores, P. (Diciembre de 2013). *Revista Peruana de Biología*. Recuperado el 3 de Febrero de 2015, de UNMSM, Facultad de Ciencias Biológicas: <http://hdl.handle.net/123456789/3053>
- Michanie, S. (2003). *Escherichia coli O157:H7, la bacteria que dispara el HACCP en la industria de la carne*. Recuperado el 15 de Diciembre de 2014, de Sitio Argentino de Producción Animal: [http://www.produccion-animal.com.ar/informacion\\_tecnica/carne\\_y\\_subproductos/44-escherichia\\_coli.pdf](http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/carne_y_subproductos/44-escherichia_coli.pdf)
- Mossel , D. (2002). *Microbiología de los alimentos*. (2 ed.). Zaragoza, España: Acribia S.A de C.V.
- Narvéez Bravo, C. A. (2007). Aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 en muestras de heces de ganado bovino doble propósito del municipio de Miranda, estado Zulia, Venezuela. *Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias-LUZ*, XVII(3).

OMS. (Diciembre de 2011). *Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC)*. Recuperado el 15 de Diciembre de 2014, de OMS: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>

Patiño Burbano, R. E. (2012). *Detección de Salmonella spp., Escherichia coli O157:H7 y Listeria monocytogenes, en muestras de leche bovina del sistema de producción doble propósito colombiano*. Maestría en Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Rivas, M., Miliwebsky, E., & Deza, N. (2007). *Manual de Procedimiento Diagnóstico y caracterización de Escherichia coli O157 productor de toxina Shiga a partir de especímenes clínicos*. Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas Centro Regional de Referencia del WHO Global Salm Surv para America del Sur, Departamento Bacteriología, Argentina.

Rivera Suárez, A. (Septiembre-Noviembre de 2011). *Determinación de la Prevalencia de Mastitis Subclínica en ganado Reyna, Rancho Los Peiranos, Nandaimé, Granada*. Recuperado el 11 de 05 de 2015

Roldan, M. L., Chinen, I., Otero, J., Miliwebsky, E., Alfaro, N., Burns, P., & Rivas, M. (Junio de 2007). Aislamiento, caracterización y subtipificación de cepas de Escherichia coli O157:H7 a partir de productos cárnicos y leche. *Revista Argentina de Microbiología*, 39(2).

Slorach, D. S., & OIE. (2008). *Inocuidad de los alimentos en los procesos de producción animal*. Recuperado el 10 de Enero de 2015, de [http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications\\_%26\\_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull\\_2008-1-ESP.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Publications_%26_Documentation/docs/pdf/bulletin/Bull_2008-1-ESP.pdf)

UNAN-León. (9 de Febrero de 2007). *Informe del Diagnóstico Preliminar de la Calidad del Agua de Consumo en las Comunidades del Sector Rural al Noreste del municipio de León*. Recuperado el 27 de Enero de 2015, de Laboratorio de Microbiología de Agua. Facultad de Ciencias.: <http://www.cisas.org.ni/files/Informe%20Final%20ECODES-UNAN%20Agua%20Sector%20Rural%20NE%20Leon.pdf>

USDA-FSIS. (2011). *"DIRECTIVA FSIS 6410.1 Verificación de vestirse y control de procedimientos sanitarios del inspector fuera de línea del personal del programa de inspección (IPP) en operaciones de sacrificio de ganado de cualquier edad"*. Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, WASHINGTON, DC.

Vilsack, T., & USDA-FSIS. (2012). *Pruebas de verificación para non-O157 Shiga-producen la toxina E. coli no-O157 STEC*. Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos., WASHINGTON,DC.

## **XIV. ANEXOS**

ANEXO N°1: PROTOCOLO DE MUESTREO DE RUTINA Y VERIFICACIÓN DE *E. COLI* O157:H7 Y *E. COLI* NON O157 STEC (O26, O45, O111, O121 Y O145) EN PRODUCTOS CÁRNICOS DE RES DE LA REPÚBLICA DE NICARAGUA.

### 14.1 MÉTODO N60

Es un método que consiste en verificar los productos y procesos de producción de los establecimientos autorizados para exportar a los estados unidos, con un muestreo de rutina y verificación de *E. coli* O157:H7 y *E. coli* non O157 STEC (O26, O45, O103, O111, O121 y O145). Con esto asegurar que las medidas sean aplicadas en la producción de carne bovina para importadores y consumidores Nacionales e Internacionales.

Para este procedimiento, un lote de producción es un sub-lote derivado de carne procesada en un mismo día. El sub-lote se define como 10,500 libras de producción de bovinos que son considerados como componentes de carne fresca destinada a ser molidos en los Estados Unidos de Norteamérica.

Los sub-lotes son equivalentes a 175 cajas de 60 libras cada una, elaboradas en una fecha específica de producción. Los sub-lotes son identificados con letras del alfabeto como muestra a continuación: sub-lote A, sub-lote B, sub-lote C así sucesivamente esto en dependencia del número de la producción del día.

### 14.2 DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO N60

Colocar de manera aséptica la cantidad de piezas, basado en los sub-lotes de un día de producción.

Cortar piezas de carne aproximadamente de 3 pulgadas de largo, 1 pulgada de ancho y 1/8 de pulgada de grueso, seleccionado preferiblemente de los productos que vienen de la superficie de las canales originales. El peso mínimo de la muestra debe ser de 375 gramos por el método GDS y 325 si se utiliza el método MLG.

Colectar 60 piezas de carne de las 60 cajas de un sub-lote de 175 cajas.

Para poder obtener las 60 piezas de carne, hay que tomar la muestra dos cajas de por medio que se pesen en la báscula. Muestrear la primera y la última caja esto dará 59 y se muestrea la penúltima para completar las 60 cajas.

Colocar las 60 piezas de carne en dos bolsas WHIRL\_PAK (30 piezas de carne en cada bolsa) debe pesar aproximadamente  $\frac{3}{4}$  de libra y colectar una muestra adicional en una tercera bolsa 1 libra y  $\frac{1}{4}$  como contra muestra. Las dos bolsas con los 30 pedazos y la tercera bolsa con la contra muestra deben pesar aproximadamente 2 libras (907 gramos).

Tomar la temperatura del sub-lote y no de la muestra tomada.

Las cajas hasta la 175 del primer sub-lote deben de ser identificadas en ambos lados con el sub-lote A y con la fecha de producción.

Muestrear los siguientes sub-lotes de acuerdo a las instrucciones previas e identificarlos con la siguiente letra (no usada) del alfabeto y la fecha de producción.

Realizar un análisis por separado en cada uno de los sub-lotes.

#### 14.3 IDENTIFICACIÓN DEL MUESTREO Y EMBARQUE

Etiquetar las muestras con la información apropiada para su identificación, la etiqueta debe incluir lo siguiente:

Nombre del establecimiento

Identificación de la producción del sub-lote

Las muestras deben mantenerse a una temperatura entre 0 a 4° C. Para el envío. Si hubiese un atraso, las muestras deben congelarse. Si las muestras son congeladas, las muestras deben mantenerse congeladas hasta que sean analizadas en el laboratorio.

Dar seguimiento para el embarque de muestra, es responsabilidad del establecimiento proveer los medios adecuados de transporte.

#### 14.4 METODOLOGÍA DE ANÁLISIS DE MUESTREO

GDS MPX TOP 7 STEC de BIOCONTROL SYSTEM como método de detección de la *E. coli* O157:H7 y *E. coli* non O157 (STEC).

BAX SYSTEM Real-Time PCR STEC Suite DuPontQualicon.

MLG 5B.02 como método de confirmación de la *E. coli* O157:H7

ANEXO N° 2. ENCUESTAS APLICADAS A PROVEEDORES DE MATERIA PRIMA (GANADEROS).

**ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA A PROVEEDORES DE GANADO DEL MATADERO ICSM.SA**

Estimado ganadero:

El objetivo principal de la encuesta es conocer las medidas higiénico sanitarias aplicadas por los ganaderos en su hato y fincas para la producción primaria de carne.

La información que usted nos brinde será utilizada para realizar un trabajo llamado “Análisis epidemiológico de *Escherichia coli* en carne bovina”.

Todos sus datos así como la información brindada se manejarán de forma confidencial, su uso estrictamente académico.

**Datos del encuestador:**

Realizada por: Gilma Ramírez y Manuel Murillo	Encuesta N°:
Motivo de la Encuesta: Estatus zoonosario	
Nombre e identificación del encuestado:	
Ocupación en la Finca:	

**I. DATOS DE LA EXPLOTACIÓN**

Nombre de la explotación:		
Dirección:		
Departamento:	Municipio:	Comarca:

**II. TIPO DE ANIMALES EXISTENTES EN LA EXPLOTACIÓN**

<b>CENSO</b>	<b>OTRAS ESPECIES (Marcar con una X)</b>
Terneros:	Porcinos:
Toros:	Ovicaprinos:
Novillos:	Equinos:
Vaquillas < de 2 años:	Aves:
Vaquillas > de 2 años:	Perros:
Vacas paridas:	Conejos:
Vacas secas:	
Buey:	
<b>Total:</b>	

En caso de tener diferentes especies, indique:

Viven estabulados en el mismo lugar: si \_\_\_\_ no: \_\_\_\_.

Utilizan los mismo comederos y bebederos: Si: \_\_\_\_, No: \_\_\_\_.

Qué tipo de explotación existe en su finca? Estabulado: \_\_\_\_, Semiestabulado: \_\_\_\_, Extensivo: \_\_\_\_

Que tipo producción tiene en su finca?

Ganado de repasto: \_\_\_\_ Ganado lechero: \_\_\_\_ Ganado doble propósito: \_\_\_\_

Ganado crianza, desarrollo y engorde: \_\_\_\_

### **III. CONTROL DE ENFERMEDADES**

1. Se han presentado enfermedades en la finca?

Sí: \_\_\_\_ No: \_\_\_\_

Indique cuales: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_.

2. ¿Ha observado alguno de los siguientes síntomas? (Marque con una X)

Diarreas		Anorexia	
Terneros débiles		Terneros muertos	
Pérdida de peso		Otros (indique cuales):	
Fiebre			
Mastitis			

3. ¿Realiza control de enfermedades en la finca? Sí: \_\_\_\_ No: \_\_\_\_

Indique de qué forma lo hace:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_.

4. En qué época del año se presentan con más frecuencia las enfermedades?

Época seca: \_\_\_\_ Época Lluviosa: \_\_\_\_

### **IV. MOVIMIENTO DE PERSONAS Y VEHÍCULOS**

1. Usted realiza visitas a otras fincas? Sí \_\_\_\_ No \_\_\_\_

2. Usted recibe visitas en su finca de otros ganaderos? Sí \_\_\_\_ No \_\_\_\_

3. ¿El vehículo que traslada los animales al matadero es propio de la granja? Sí \_\_\_\_  
No \_\_\_\_

4. Usted como clasifica el nivel de estrés de su ganado durante el transporte? Alto: \_\_\_\_  
Bajo: \_\_\_\_

**V. CONTROL DE DESECHOS Y CADÁVERES:**

1. Los desechos y cadáveres de la finca son: Quemados: \_\_\_\_; enterrados: \_\_\_\_; llevados al basurero municipal: \_\_\_\_; Usados para producir abono orgánico: \_\_\_\_.

**VI. OTROS DATOS**

1. ¿Le facilita otro tipo de alimento a los animales además del concentrado?  
Sí: \_\_\_\_; No: \_\_\_\_\_. En caso de ser afirmativo indique cuál:
2. ¿Los bovinos salen a pastorear? Sí: \_\_\_\_; No: \_\_\_\_\_.
3. El agua que es usada en la granja y que toman los animales es:
  - a. Red urbana de agua potable: \_\_\_\_\_.
  - b. Laguna/Río: \_\_\_\_\_
  - c. Pozo propio: \_\_\_\_\_
  - d. Lluvia: \_\_\_\_\_
1. Utiliza sistema de clorinado para los incisos b, c y d? Sí: \_\_\_\_; No: \_\_\_\_\_.
2. ¿Existe sistema de drenaje dentro de la finca/granja? Sí: \_\_\_\_; No: \_\_\_\_\_
3. En caso de ser afirmativa la pregunta anterior indique hacia dónde cae el agua de drenaje:
4. ¿En la finca hacen control de insectos y roedores? Sí: \_\_\_\_ No: \_\_\_\_\_.
5. ¿Con qué frecuencia desparasita, vacuna y vitamina el ganado en su finca?
6. ¿Con qué medidas de bioseguridad cuenta para evitar contaminación o enfermedades en su finca?

ANEXO N° 3. INFORMES FINALES DE AUDITORÍAS REALIZADAS POR PAÍSES  
IMPORTADORES DE PRODUCTOS CÁRNICOS BOVINOS.



United States Department of Agriculture

MAY 19 2015

Food Safety and  
Inspection Service

1400 Independence  
Avenue, SW.  
Washington, D.C.  
20250

Dr. Norman Valdivia Quijano  
Chief of the Meat Inspection Service  
Dirección General de Protección y Sanidad Agropecuaria  
Ministry of Agriculture and Forestry  
Gobierno De Nicaragua  
Managua, Nicaragua, C.A.

Dear Dr. Valdivia Quijano,

The Food Safety and Inspection Service (FSIS) conducted an on-site audit of Nicaragua's meat inspection system from September 8 through September 19, 2014. Enclosed is a copy of the draft final audit report. You are invited to provide comments regarding the information in the audit report. Comments received from the government of Nicaragua will be included as an attachment to the final report. Please provide comments within 60 days of the receipt of this letter.

If you have any questions regarding the FSIS audit or need additional information, please contact me at telephone number (202) 720-8609, by facsimile at (202) 720-0676, or electronic mail at [international.audit@fsis.usda.gov](mailto:international.audit@fsis.usda.gov)

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Shaukat H. Syed".

Dr. Shaukat H. Syed  
Director  
International Audit Staff  
Office of Investigation, Enforcement, and Audit

Enclosure

**SECRETARIA DE AGRICULTURA Y GANADERIA (SAG)  
SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA (SENASA)  
DIVISION DE INOCUIDAD DE ALIMENTOS (DIA)  
SECCION DE CARNES Y PRODUCTOS CARNICOS**

**AUDITORIA DEL PLAN DE HACCP Y / O  
PRE-REQUISITOS BPM Y SSOP**

Formulario DIA-HA-05-08

No. de Establecimiento: #4

Fecha de Auditoria: 14 de junio del 2011

Nombres y Cargo del Personal del Equipo Auditor

1. Dr. Juan Ramón Velásquez
2. Dr. Manuel de Jesús Soto M.

Nombre del Establecimiento: Industrial Comercial San Martín S. A.

No. de Registro y fecha registro inicial: registro #4 desde 1976

Nombre del Gerente o Responsable: Lic. Raúl Barrios

Dirección y teléfonos: Km 67.5 carretera Panamericana sur Nandaime, Nicaragua

Teléfono:            Fax:

Inspector Oficial o Acreditado en la Planta: Dr. Norman Castellano Valdés

Actividad de Producción: Sacrificio y deshuese de bovinos.

Listado de Productos que se Elabora: Cortes industriales, carne congelada, carne deshuesada, cortes selectos, vísceras.

Fecha de la Última validación del Plan HACCP: Km 67.5 carretera Panamericana sur Nandaime, Nicaragua

Nombre y Cargo del Personal de La Empresa en la Auditoria

1. Ing. Leonardo Lopez (Responsable de HACCP)
2. Lic. Raul Barrios
3. Dra. Idagiselda Mondragon (Regente Veterinario)



**Imagen 1: Toma aérea de la planta.**



**Imagen 2: Procedimiento para la toma de muestra.**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125
126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150
151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175

**Gráfica 1: Método N-60 (Selección de cajas a muestrear).**



Imagen 3: Medio de empaque para el envío de muestras, bolsas de polietileno (WHIRL-PAK).



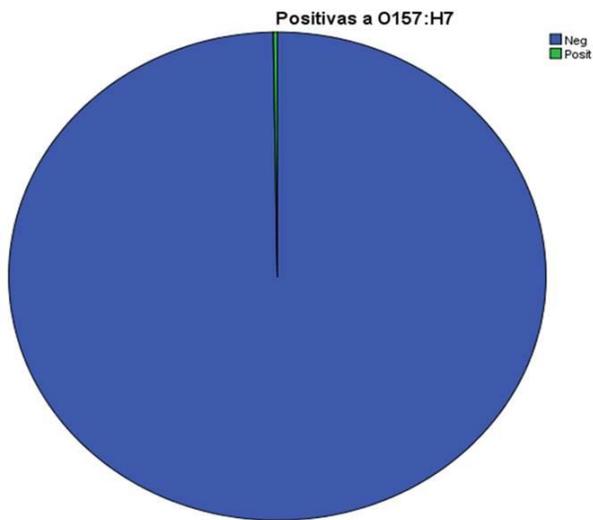
Imagen 4: Forma de empackado de cada muestra, cada una contiene 30 piezas de carne, 2 bolsas originales y 1 testigo.

Tabla 1: Total de muestras positivas a O157:H7.

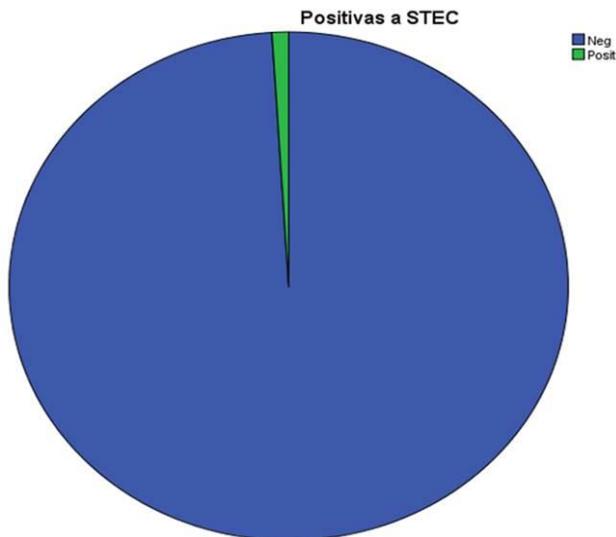
Positivas a O157:H7					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Neg	417	99.77	99.77	99.77
	Posit	1	0.23	0.23	100.0
	Total	418	100.0	100.0	

**Tabla 2: Total de muestras positivas a STEC.**

Positivas a STEC					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Neg	414	99.0	99.0	99.0
	Posit	4	0.96	0.96	100.0
	Total	418	100.0	100.0	



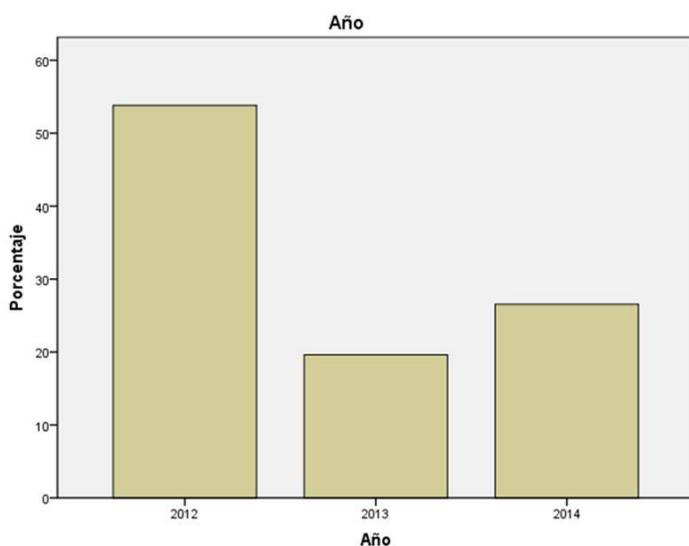
**Gráfica 2: Porcentaje de muestras positivas a O157:H7 (1/418).**



**Gráfica 3: Porcentaje de muestras positivas a STEC (4/418).**

**Tabla 3: Frecuencia y porcentaje de muestras positivas según procedencia.**

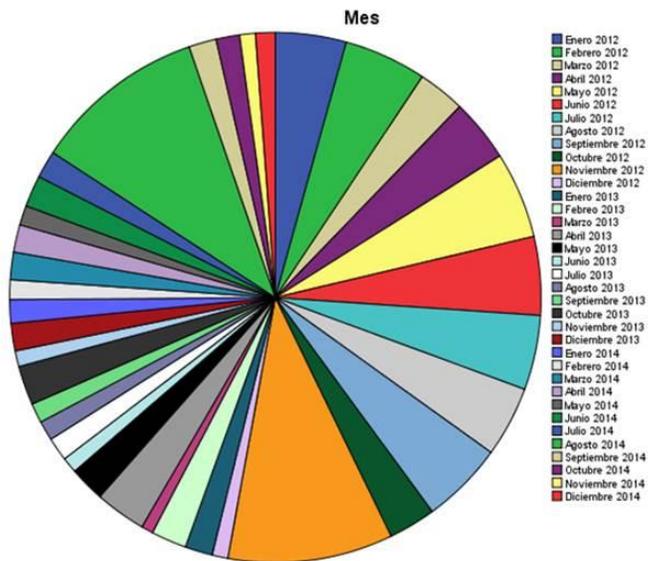
		Frecuencia	Porcentaje
Válidos	Boaco	1	0.237
	Chontales	1	0.237
	RAAN	2	0.47
	Rio San Juan	1	0.237
	Total	5	1.19



**Gráfica 4: Porcentaje de muestras analizadas por año (2012, 2013, 2014).**

**Tabla 4: Total de muestras analizadas por mes.**

Mes	Total de Muestras	Mes	Total de Muestras	Mes	Total de Muestras
Enero 2012	18	Enero 2013	7	Enero 2014	6
Febrero 2012	21	Febrero 2013	9	Febrero 2014	5
Marzo 2012	12	Marzo 2013	3	Marzo 2014	7
Abril 2012	16	Abril 2013	13	Abril 2014	7
Mayo 2012	22	Mayo 2013	9	Mayo 2014	5
Junio 2012	20	Junio 2013	4	Junio 2014	8
Julio 2012	19	Julio 2013	6	Julio 2014	7
Agosto 2012	18	Agosto 2013	5	Agosto 2014	44
Septiembre 2012	21	Septiembre 2013	5	Septiembre 2014	7
Octubre 2012	12	Octubre 2013	10	Octubre 2014	6
Noviembre 2012	42	Noviembre 2013	4	Noviembre 2014	4
Diciembre 2012	4	Diciembre 2013	7	Diciembre 2014	5



**Gráfica 5: Representación de la toma de muestras de los 36 meses evaluados.**