PRESENCIA DE *Escherichia coli* O157:H7 EN HECES Y CUEROS DE NOVILLOS EN TERMINACIÓN A CORRAL O PASTURAS

P. Rovira, J. Velazco, G. Banchemo, A. LaManna, F. Baldi, G. Brito, F. Montossi

Introducción

Escherichia coli O157:H7 es un patógeno capaz de causar enfermedad en humanos, siendo el principal reservorio el tracto gastrointestinal de los bovinos. La contaminación de la carne puede producirse durante el proceso industrial fundamentalmente a través de la materia fecal y/o el cuero de los animales. El cuereado y la evisceración son las 2 etapas de la faena de mayor riesgo de contaminación de la canal.

Existe una presión en aumento de los países importadores, tanto de autoridades sanitarias como de grupos de consumidores, en aspectos relacionados al control, vigilancia y caracterización de *E. coli* O157:H7 a lo largo de toda la cadena cárnica.

A pesar de que existe abundante información sobre *E. coli* O157:H7 a nivel internacional, la información disponible a nivel nacional es limitada. El objetivo del presente trabajo fue generar información preliminar referida a la presencia de *E. coli* O157:H7 en novillos engordados en sistemas de producción con distinto grado de intensificación del recurso alimenticio (pastura vs feedlot).

Materiales y Métodos

General

El presente trabajo se enmarca dentro del Proyecto de INIA "Efecto del manejo nutricional post-destete y durante el periodo de terminación sobre las características de crecimiento y eficiencia de conversión en sistemas de recría y engorde intensivo".

La población de muestreo fueron los novillos de INIA La Estanzuela sometidos a 2 estrategias de alimentación definidas como los tratamientos: **1) terminación a corral, y 2) terminación en pasturas**. Se realizaron 2 ciclos de terminación: ciclo 1 (marzo-junio 2009) y ciclo 2 (mayo-julio 2009) en donde se manejaron entre 110-120 novillos por ciclo.

El objetivo productivo fue obtener altas ganancias de peso tanto en la terminación en base a pasturas como en el confinamiento. Todos los animales habían tenido un manejo similar sobre pasturas durante la primavera y verano anterior al inicio del ensayo.

En el caso del tratamiento a corral, existían 20 corrales con 3 animales por corral. Los animales del tratamiento de pasturas se manejaban en un solo bloque en pastoreo rotativo a una asignación de forraje estimada del 5%. Los muestreos de heces y cueros fueron realizados al inicio y final de cada ciclo de engorde de acuerdo al siguiente protocolo.

Muestreo de heces

Se tomaron heces del recto de todos los animales del ciclo 1 de engorde al inicio y fin dentro de cada tratamiento (corral y pasturas). Para la extracción de las muestras se utilizaba un guante desechable por cada animal. Cada muestra era colocada en una bolsa individual e inmediatamente almacenada en una conservadora

para posterior traslado al laboratorio. En el laboratorio se formaban muestras compuestas conformada cada una por las heces de 3 animales.

Muestreo de cueros

Se muestreó el cuero todos los animales del ciclo 2 de engorde al inicio y fin dentro de cada tratamiento (corral y pasturas). Para el muestreo se utilizaron esponjas estériles pre- hidratadas con 15 ml de caldo peptonado. Cada esponja se presionaba con fuerza y pasaba en forma horizontal y vertical en un área de aprox. 1.000 cm² del flanco izquierdo del animal. Luego cada esponja se colocaba en una bolsa individual agregando 10 ml adicionales de caldo peptonado y eran colocadas en una conservadora para su traslado al laboratorio. En el laboratorio se formaban muestras compuestas conformada cada una por esponjas provenientes de 3 animales.

Análisis microbiológico

Las muestras compuestas tanto de heces como de esponjas eran refrigeradas y enviadas al Sector Microbiología del Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU). Una vez en el laboratorio cada muestra era enriquecida y sometida a la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para la detección de *E. coli* O157:H7. En las muestras presuntamente positivas se trataba de aislar el patógeno *E.coli* O157:H7 mediante la técnica de separación inmunomagnética y posterior siembra en medios de cultivos selectivos. Finalmente se realizaba la confirmación de la presencia de *E.coli* O157:H7 mediante técnicas bioquímicas, serológicas y moleculares.

Análisis estadístico

Fue utilizado el análisis de Chi-cuadrado, usando el comando PROC FREQ de SAS, para determinar la influencia del tratamiento (corral, pasturas) en la frecuencia de muestras y animales positivos a *E. coli* 157:H7. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando la probabilidad fue menor a 0.05. Para la determinación de la prevalencia general de *E. coli* O157:H7, promediando sobre tratamientos, así como el intervalo de confianza (95%) se utilizó el comando PROC FREQ de SAS para distribución binomial (presencia, ausencia).

Resultados y Discusión

Muestreo de heces

El Cuadro 1 muestra los resultados del primer muestreo de heces realizado al inicio del ciclo 1 de engorde. De acuerdo al análisis de la información se estimó la presencia de *E. coli* O157:H7 en 1,67% y 1,92% de los animales en los tratamientos de corral y pasturas, respectivamente. Para dicho cálculo se asumió que dentro de cada muestra compuesta positiva sólo 1 de los 3 animales fuera portador.

Dicha diferencia entre tratamientos no fue significativa, situación que era de esperar considerando que todos los animales provenían de pasturas. Promediando sobre los tratamientos, el porcentaje inicial de animales portadores de *E. coli* O157:H7 fue de 1,79% (2 de 112 novillos) con un límite mínimo y máximo (95% intervalo de confianza) de 0,22% y 6,30%, respectivamente. Información publicada recientemente a nivel internacional reporta valores de prevalencia en heces de 3,8% en Argentina (Tanaro et al 2010) y entre 8,5 y 11,1% en Estados Unidos (Dodd et al 2010, Walker et al 2010).

Cuadro 1. Presencia de *E. coli* O157:H7 en heces al inicio de cada estrategia de alimentación

	Tratamiento	
	Corral	Pasturas
Animales muestreados (N°)	60	52
Muestras compuestas (N°) ¹	20	17
Muestras positivas a <i>E. coli</i> O157:H7 (N°)	1	1
Prevalencia estimada en el lote (%)²	1,67	1,92

¹ Una muestra compuesta está integrada por 3 muestras individuales de distintos animales

² Se asume que sólo 1 sub-muestra de las 3 que componen la muestra compuesta es positiva.

El muestreo final de heces se realizó el 11 de junio de 2009, luego de 72 días de realizado el primer muestreo. El Cuadro 2 muestra los resultados obtenidos. La variación en el total de animales muestreados en la primer y segunda fecha de muestreo, 112 y 108 respectivamente, se debe a mortandad y/o animales "vacíos" (sin presencia de heces en el recto).

Cuadro 2. Presencia de *E. coli* O157:H7 en heces al final de cada estrategia de alimentación

	Tratamiento	
	Corral	Pasturas
Animales muestreados (N°)	57	51
Muestras compuestas (N°) ¹	20	17
Muestras positivas a <i>E. coli</i> O157:H7 (N°)	0	1
Prevalencia estimada en el lote (%)²	0	1,96

¹ Una muestra compuesta está integrada por 3 muestras individuales de distintos animales

² Se asume que sólo 1 sub-muestra de las 3 que componen la muestra compuesta es positiva.

Del análisis de la información surge que el sistema de alimentación no afectó significativamente la presencia de *E. coli* O157:H7 en heces, siendo la prevalencia final de 0,0 y 1,96% en los tratamientos de corral y pasturas, respectivamente ($P = 0,28$). Fegan *et al* (2004) tampoco encontraron diferencias en la presencia de *E. coli* O157:H7 en las heces de ganado provenientes de diferentes sistemas de producción en Australia (15 y 10% para ganado proveniente de feedlot y pasturas, respectivamente).

Promediando sobre los tratamientos, el porcentaje final de animales portadores de *E. coli* O157:H7 fue de 0,93% (1 de 108 novillos) con un límite mínimo y máximo (95% intervalo de confianza) de 0,02% y 5,05%, respectivamente.

Importa resaltar que el animal positivo en la 2ª fecha de muestreo no había sido portador de la bacteria en la primera fecha de muestreo. Una característica de la colonización de *E. coli* O157:H7 en el tracto del animal es que se desarrolla en forma transitoria, estando presente por un tiempo variable y luego siendo excretada.

Muestreo de cueros

El Cuadro 3 muestra los resultados del primer muestreo en cueros realizado al inicio del ciclo 2 de engorde. Si se asume que sólo un animal por muestra compuesta fuera positivo, la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en cueros sería de 11,7% (feedlot) y 3,5% (pasturas).

Existió una tendencia a que los animales en confinamiento presentaran una mayor prevalencia de *E. coli* O157:H7 en el cuero ($P = 0,07$). Promediando sobre los tratamientos, el porcentaje de animales portadores de *E. coli* O157:H7 en el cuero al inicio de los tratamientos fue de 7,63% (9 de 118 novillos) con un límite mínimo y máximo (95% intervalo de confianza) de 3,5% y 14,0%, respectivamente.

Cuadro 3. Presencia de *E. coli* O157:H7 en cueros al inicio de cada estrategia de alimentación

	Tratamiento	
	Corral	Pasturas
Animales muestreados (N°)	60	58
Muestras compuestas (N°) ¹	20	19
Muestras positivas a <i>E. coli</i> O157:H7 (N°)	7	2
Prevalencia estimada en el lote (%)²	11,7	3,5

¹ Una muestra compuesta está integrada por 3 muestras individuales de distintos animales

² Se asume que sólo 1 sub-muestra de las 3 que componen la muestra compuesta es positiva.

No era de esperar una diferencia tan grande entre tratamientos al inicio del ciclo de engorde debido a que todos los animales provenían de pasturas. Sin embargo, el primer muestreo de cueros se realizó cuando ya se habían empezado a aplicar las distintas estrategias de alimentación (21 días después). En esas condiciones, las características ambientales (barro, heces) y de manejo de los corrales (reducido espacio por animal) pudieron haber incrementado la contaminación cruzada entre animales. El ganado a pastoreo habría estado menos expuesto a la contaminación con *E. coli* O157:H7 (Jonsson *et al.* 2001).

Comparado con los resultados obtenidos en heces, era de esperar una mayor presencia de *E. coli* O157:H7 en cueros debido a que es la región del animal más rápidamente expuesta a la contaminación. El nivel de presencia de *E. coli* O157:H7 en el cuero de los animales es de especial utilidad para el análisis de riesgo en la industria frigorífica en donde importa conocer la cantidad del patógeno que ingresa a la planta frigorífica, siendo el cuero una de las principales fuentes de contaminación de la canal.

En el muestreo realizado al final del proceso de engorde (22/07/2009), se encontraron sólo 2 muestras presuntamente positivas en el tratamiento de pasturas (Cuadro 4). Sin embargo, problemas en la manipulación de las muestras impidieron lograr el dato de confirmación de la presencia del patógeno.

Cuadro 4. Presencia de *E. coli* O157:H7 en cueros al final de cada estrategia de alimentación

	Tratamiento	
	Corral	Pasturas
Animales muestreados (N°)	60	58
Muestras compuestas (N°) ¹	20	19
Muestras positivas a <i>E. coli</i> O157:H7 (N°)	0	2**
Prevalencia estimada en el lote (%)²	0	s/d

¹ Una muestra compuesta está integrada por 3 muestras individuales de distintos animales

² Se asume que sólo 1 sub-muestra de las 3 que componen la muestra compuesta es positiva.

Conclusiones

E. coli O157:H7 fue detectada en las heces y cueros de animales engordados tanto a corral como a pasturas.

No existieron diferencias significativas en la presencia de *E. coli* O157:H7 en heces de novillos a corral o sobre pasturas. En el caso de los cueros, es necesario generar mayor información.

Se requiere de mayor información científica para caracterizar la presencia de *E. coli* O157:H7 en los distintos sistemas de producción así como sus efectos en la fase industrial.

Implicancias

Conocida la presencia de *E. coli* O157:H7 en los sistemas primarios de producción, la implementación de estrategias de vigilancia y/o control de *E. coli* O157:H7 a lo largo de toda la cadena cárnica es importante para disminuir el riesgo de exposición del consumidor a dicho patógeno.

AGRADECIMIENTOS

- ✓ A Pablo Lorenzo, de INIA Treinta y Tres, responsable de la recolección de muestras.

- ✓ Al personal de campo de INIA La Estanzuela por colaborar en el proceso de muestreo.

- ✓ Al Sector Microbiología del LATU por la realización de los análisis.

Literatura citada

- Dodd C, DG Renter, J Trent Fox, X Shi, MW Sanderson, and TG Nagaraja. 2010. Genetic relatedness of *Escherichia coli* O157 isolates from cattle feces and preintervention beef carcasses. *Foodborne Pathogens and Disease* 7, 357-365.
- Fegan N, P Vanderlinde, G Higgs, P Desmarchelier. 2004. The prevalence and concentration of *Escherichia coli* O157 in faeces of cattle from different production systems at slaughter. *Journal of Applied Microbiology*. 97:362-370.
- Jonsson, ME, A Aspán, E Eriksson, I Vagsholm. 2001. Persistence of verocytotoxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 in calves kept on pasture and in calves kept indoors during the summer months in a Swedish dairy herd. *International Journal of Food Microbiology* 66, 55-61.
- Tanaro D, GA Leotta, LH Lound, L Galli, MC Piaggio, CC Carbonari, S Araújo, and M Rivas. 2010. *Escherichia coli* O157 in bovine feces and surface water streams in a beef cattle farm of Argentina. *Foodborne Pathogens and Disease* 4, 475-477.
- Walker C, X Shi, M Sanderson, J Sargeant, and TG Nagaraja. 2010. Prevalence of *Escherichia coli* O157:H7 in gut contents of beef cattle at slaughter. *Foodborne Pathogens and Disease* 3, 249-255.