

Eficacia de la aspersión de ácido láctico (4%) en el descenso de enterobacterias totales y *Escherichia coli* en reses bovinas

Iezzi, S.¹; Sallovitz, J.M.^{1,2}; Purslow, P.³

¹Centro de Investigación Veterinaria Tandil, CONICET, Fac.Cien.Vet. UNCPBA, Campus Universitario, 7000-Tandil, Argentina, Tel.0249-4439850, E-mail: siezzi@vet.unicen.edu.ar. ²Comisión Investig. Científ. Prov.Bs.As. (CICPBA). ³Depto. Tecnol. Aliment. Fac.Vet. UNCPBA.

Resumen

Iezzi, S.; Sallovitz, J.M.; Purslow, P.: Eficacia de la aspersión de ácido láctico (4%) en el descenso de enterobacterias totales y *Escherichia coli* en reses bovinas. *Rev. vet.* 27: 1, 41-44, 2016. El objetivo de este estudio fue evaluar la eficacia de la aspersión con ácido láctico (4%) antes y después del lavado con agua de reses bovinas, en la reducción de enterobacterias totales (EBT) y *E. coli* en la superficie de reses de bovinos en el frigorífico. Antes del lavado de las reses, se seleccionaron cuatro canales de bovinos. Se asperjaron cuatro medias reses con ácido láctico al 4% y las respectivas cuatro medias reses de las medias reses tratadas formaron el grupo control. El mismo procedimiento se realizó con cuatro canales luego del lavado con agua. Mediante hisopado, en la totalidad de las muestras se determinó la presencia y cantidad (recuento) de EBT y *E. coli*. Antes del lavado de las reses con agua, los recuentos de EBT (expresados en unidades formadoras de colonias UFC) sin tratamiento con ácido láctico 4% (controles) estuvieron entre 7 y 280 UFC/cm² y los recuentos de *E. coli* se situaron entre 7 y 95 UFC/cm². El tratamiento de desinfección con ácido láctico al 4% antes del lavado con agua demostró una eficacia del 100%, detectándose una eficacia del 75% luego del lavado de las reses con agua. Los resultados obtenidos indican que el tratamiento de las superficies de reses bovinas con ácido láctico al 4%, antes y/o después del lavado de las reses con agua, en conjunto con buenas prácticas de manufactura, constituye una alternativa de desinfección a bajo costo frente a la contaminación por EBT totales y *E. coli*.

Palabras clave: bovino, frigorífico, reses, desinfección, enterobacterias totales, *Escherichia coli*.

Abstract

Iezzi, S.; Sallovitz, J.M.; Purslow, P.: Effectiveness of 4% lactic acid spraying in the reduction of total enterobacteria and *Escherichia coli* counts in beef carcasses. *Rev. vet.* 27: 1, 41-44, 2016. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of 4% lactic acid spraying in the reduction of total enterobacteria and *E. coli* in beef carcass surfaces, applied either before or after washing carcasses with water. For this purpose, four carcasses were selected. Four half-carcasses were sprayed with 4% lactic acid while their corresponding four half-carcasses were used as controls. The same procedure was performed with four additional carcasses after being washed with water. The presence and bacterial count of total enterobacteria and *E. coli* were determined in all the samples using swabs. Before washing with water, the total counts (colony-forming units CFU) in untreated (control) carcasses were between 7 and 280 CFU/cm² for total enterobacteria and between 7 and 95 CFU/cm² for *E. coli*. The disinfection treatment with 4% lactic acid showed a 100% efficacy when applied before washing the carcasses with water and a 75% efficacy when applied after washing. According to the results obtained, the treatment with a 4% solution of lactic acid applied on the beef carcass surface before and/or after the carcass washing might be a potential low-cost disinfection alternative against contamination by total enterobacteria and *E. coli*.

Key words: cattle, slaughterhouse, beef, disinfection, total enterobacteria, *Escherichia coli*.

INTRODUCCIÓN

La contaminación microbiana de las canales que ocurre durante la faena es indeseable e inevitable. Aunque la contaminación puede provenir del ambiente de trabajo, la fuente primaria puede originarse a partir del mismo animal, en el que pueden habitar bacterias patógenas como *Escherichia coli*, *Salmonella sp* y *Listeria monocytogenes*, las cuales implican amenazas para la salud humana.

La familia Enterobacteriaceae constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias Gram negativas. Reciben su nombre por localizarse habitualmente como saprófitos en el tubo digestivo, aunque se trata de gérmenes ubicuos en el suelo, el agua y la vegetación, así como también formando parte de la flora intestinal normal de muchos animales, además del hombre.

E. coli es el microorganismo más prevalente de esta familia y se encuentra normalmente en el intestino del ser humano y de los animales de sangre caliente. La mayoría de las cepas son apatógenas. Sin embargo, algunas de ellas, como *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), pueden causar graves enfermedades al estar presente en los alimentos. La bacteria se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como son los productos con carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas.

E. coli O157:H7 es una cepa enterohemorrágica que causa intoxicaciones al ser ingerida en alimentos debido a la producción de verotoxina, causante de diarrea hemorrágica y falla renal (síndrome urémico hemolítico). *E. coli* O157:H7 es el serotipo más importante por su impacto en la salud pública, pero hay también otros serotipos frecuentemente implicados en estos brotes^{7, 12, 13}.

La contaminación puede originarse en la piel del animal, cuando la canal se expone al pelo que tiene acumulado polvo, suciedad y materia fecal¹⁶. Existen diferentes fuentes de contaminación durante el proceso de sacrificio y faenado como, por ejemplo, el contenido gastrointestinal, los equipos, el personal, los utensilios y el ambiente de trabajo (agua y aire)¹¹.

Una investigación realizada en Argentina durante 2006 demostró que el 38% de las reses estudiadas, las cuales estaban sometidas a normas sanitarias como lavado con agua potable, presentaban *E. coli*⁴. En otro estudio a nivel nacional, se analizaron 279 muestras de carne, detectándose STEC O157:H7 (*E. coli* productora de toxinas de tipo Shiga) en el 3,8% de las muestras de carne picada, 4,8% de chorizo fresco y 3,3% de chorizo seco³.

En la faena existen distintas alternativas de desinfección como ser: vapor de agua y vacío, ducha o inmersión con agua caliente, pasteurización con vapor, radiación electromagnética, radiación ionizante y congelación¹⁰. La desinfección de las reses en etapas de producción, antes del ingreso a las cámaras de frío, asume gran importancia dado que se ha demostrado la

existencia de contaminación cruzada por dispersión de *E. coli* entre reses en las cámaras de refrigeración⁸.

En el año 2013, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) convalidó en el Reglamento (UE) 101/2013 el uso de ácido láctico para la descontaminación de superficies de reses y carne bovinas¹⁴. En Argentina, el SENASA, en base a dicho reglamento y luego de realizar la consulta abierta sobre el tema, decidió aceptar el empleo de ácidos orgánicos en los frigoríficos, modificando el Decreto 4.238/68. Debido a la variabilidad entre los distintos estudios realizados, el comité de la recomendó que los operadores de empresas alimentarias validen la eficacia antimicrobiana del ácido láctico bajo sus condiciones específicas de proceso⁵.

En tal contexto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la eficacia de la aspersion de ácido láctico al 4% en la superficie de reses de bovinos, antes y después del lavado con agua, en la reducción de enterobacterias totales (EBT) y *E. coli*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó un diseño en paralelo, con dos grupos experimentales, cada uno con su respectivo grupo control. Se preparó una solución de ácido láctico al 4%, respetando las características enumeradas por SENASA (modificación del Decreto 4.238/68, Capítulo I, numeral 1.6) y el Reglamento UE 231/2012¹⁵.

Las reses de los grupos experimentales fueron asperjadas (rociadas) con la solución de ácido láctico al 4% a una temperatura de 55°C. En el frigorífico, al final de la faena y antes del lavado de las reses con agua (grupo con alta carga bacteriana), las medias reses fueron rociadas, cubriendo ambas superficies, con 300 ml de solución.

Cuatro (4) de ellas fueron tratadas con ácido láctico al 4%. El grupo control estuvo formado por las respectivas cuatro (4) medias reses de las tratadas. Luego de dos (2) minutos de espera, se recolectaron muestras (hisopos 3M Quick Swab) en distintas secciones de las medias reses, siguiendo la metodología para la toma de muestras normatizada en el antemencionado Reglamento UE 231/2012.

Los mismos procesos de aspersion y recolección de muestras se repitieron en otras medias reses luego del lavado de las mismas con agua (grupo con baja carga bacteriana). Todas las muestras recolectadas fueron transportadas según los requerimientos para traslado al laboratorio y para la determinación de la presencia de EBT y *E. coli*. En el primer caso se utilizó la técnica de recuento que emplea el método estándar de *ARVB con glucosa*, con incubación de 24 h a 37°C. Para la determinación de *E. coli*, se empleó la técnica de diferencial *TBX medium*, con un periodo de incubación de 24 h a 44°C.

La comparación de la eficacia de los tratamientos se determinó mediante la prueba t de Student, considerando significativos los efectos a un valor de $p < 0,05$.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa GraphPad InStat 3.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Antes del lavado de las reses con agua (alta carga bacteriana), los recuentos de EBT en las reses sin tratamiento con ácido láctico 4% (control) variaron entre 7 y 280 unidades formadoras de colonias por cm² (UFC/cm²). Luego del tratamiento con la solución de ácido láctico, no se detectaron EBT (0 UFC/cm²). Los recuentos de *E. coli* estuvieron en el rango entre 7 y 95 UFC/cm², no detectándose UFC de *E. coli* luego del tratamiento con hisopados.

Al analizar los resultados obtenidos en las reses control (sin tratamiento de ácido láctico), se determinó que luego del lavado con agua, los recuentos de EBT fueron ocho veces menores en las reses lavadas y dos veces menores para *E. coli*.

En las reses recién lavadas con agua, los recuentos de EBT y *E. coli* luego del tratamiento con ácido láctico fueron significativamente menores. Los valores iniciales fueron de 13,75 y 20 UFC/cm² y, luego del tratamiento, se redujeron a 2 y 0,75 UFC/cm² para EBT y *E. coli*, respectivamente. En la Tabla 1, se detallan las UFC/cm² de EBT y *E. coli* obtenidas para reses tratadas con ácido láctico y reses control.

Tabla 1. Eficacia de la aspersión de ácido láctico previa y posteriormente al lavado con agua.

aspersión	grupo	EBT UFC/cm ²	<i>E. coli</i> UFC/cm ²
previo al lavado	ác.láct.4%	0	0
		0	0
		0	0
		0	0
	promedio	0	0
		280	95
		140	54
		15	4
		7	7
		110,5	40
posterior al lavado	ác.láct.4%	0	0
		8	3
		0	0
		0	0
	promedio	2	0,75
		10	3
		28	11
		11	4
		6	2
		13,75	20

EBT: enterobacterias totales, E.coli: *Escherichia coli*, UFC: unidades formadoras de colonias, ác.láct.: ácido láctico

Recuentos más altos se obtuvieron aplicando ácido láctico a más baja concentración (0,9%) y con menor tiempo de contacto (20 s)⁹, indicando un promedio de reducción de *E. coli* biotipo 1 de 1,05 log₁₀ UFC/cm².

Trabajando con cortes de cerdo¹ se comprobó que el ácido láctico al 2% durante 75 s y a una temperatura de 15°C, disminuyó la concentración de *E. coli* a niveles menores de 0,11 UFC log₁₀. Otros autores comprobaron que el ácido láctico al 2% en carcasas bovinas fue capaz de reducir las tasas de EBT y *E. coli*^{2,6}.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el tratamiento de las superficies de reses bovinas con ácido láctico al 4%, antes y/o después del lavado con agua, constituye una alternativa simple, segura y de bajo costo, que puede ser implementada rápidamente y que, en conjunto con las buenas prácticas de manufactura, permitirá aumentar la eficacia en la reducción de enterobacterias y, en especial, de *E. coli*. Tales medidas redundarán en la producción de alimentos más seguros para los consumidores.

Agradecimientos. Al Dr. Ramón Nosedá, del Laboratorio Azul, quien colaboró desinteresadamente realizando los análisis microbiológicos.

REFERENCIAS

1. Castelo M, Kang D, Siragusa G, Koohmaraie M, Berry E. 2001. Evaluation of combination treatment process for the microbial decontamination of pork trim. *J Food Prot* 64: 335-342.
2. Castillo A, Lucia N, Goodson LM, Savell KJ, Acuff GR. 1998. Comparison of water wash, trimming, and combined, hot water and lactic acid treatments for reducing bacteria of fecal origin on beef carcasses. *J Food Prot* 61: 823-828.
3. Chinen I, Tanaro JD, Miliwebsky E, Lound LH, Chilleni G, Ledri S, Baschkier A, Scarpin M, Rivas M. 2001. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 from retail meats in Argentina. *J Food Prot* 64: 1346-1351.
4. Cicuta ME, Deza N, Roibón WR, Benítez MC, Ramírez G, Arzú RO. 2001. *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en medias reses y carnes molidas bovinas. *Comunic. Cientif. & Tecnol. UNNE, Corrientes, Argentina, Resumen V-041*. On line: www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt2006/04.../2006-V-041.pdf
5. European Food Safety Authority-EFSA. 2011. Panel on biological hazards (BIOHAZ): scientific opinion on the evaluation of the safety and efficacy of lactic acid for the removal of microbial surface contamination of beef carcasses, cuts and trimmings. *EFSA Journal* 9: 2317.
6. Hardin MD, Acuff GR, Lucia LM, Oman JS, Savell JW. 1995. Comparison of methods for decontamination from beef carcass surfaces. *J Food Prot* 58: 368-374.
7. Karch H, Tarr PI, Bielaszewska M. 2005. Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* in human medicine. *Int J Med Microbiol* 295: 405-418.
8. McEvoy JM, Doherty AM, Sheridan JJ, Thomson-carter FM, Garvey P, McGuire L, Blair IS, McDowell DA. 2003. The prevalence and spread of *Escherichia coli* O157:H7 at a commercial beef abattoir. *J Appl Microbiol* 95: 256-266.

9. **Montero V.** 2009. Análisis comparativo entre ácido láctico, ácido peroxiacético e hipoclorito de sodio en la desinfección de canales bovinas. *Tesis Med. Vet. Univ. La Salle* (Bogotá, Colombia). On line: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/6063/T14.09%20V234a.pdf?sequence=1>
10. **Moreno B.** 2006. *Higiene e inspección de carnes*, 2º ed., Ed. Díaz de Santos, Madrid, volumen I, p. 646.
11. **Nutsch A, Phebus R, Reiman J, Shafer D, Leising J, Kastner C.** 1997. Evaluation of steam pasteurization process in a commercial beef processing facility. *J Food Prot* 60: 485-492.
12. **Organización Mundial de la Salud-OMS-FAO.** 2011. *Escherichia coli enterohemorrágica EHEC*. Disponible: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/>
13. **Paton JC, Paton AW.** 1998. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clin Microbiol Rev* 11: 450-479.
14. **Reglamento UE 101/2013.** Disponible en: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:034:0001:0003:ES:PDF\(02-8-2015\)](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2013:034:0001:0003:ES:PDF(02-8-2015)).
15. **Reglamento UE 231/2012.** Disponible en: [http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:083:0001:0295:ES:PDF\(02-8-2015\)](http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:083:0001:0295:ES:PDF(02-8-2015)).
16. **Triveldi S, Reynolds AE, Chen J.** 2007. Use of a commercial household steam cleaning system to decontaminate beef and hog carcasses processed by four small or very small meat processing plants in Georgia. *J Food Prot* 70: 635-640.