

Dosis: 0.2-0.5mg kg

Propofol

Agente inductor, hipnótico, gran herramienta en pequeños rumiantes para además de inducir poder hacer una sujeción química, posee con gran estabilidad hemodinámica, y gran herramienta a la hora de trabajar con pequeños rumiantes

Dosis 1-5 mg/kg

### MANTENIMIENTO

El mantenimiento anestésico en los rumiantes se puede hacer mediante goteos preparados o mediante bolos. Las drogas utilizadas son:

- Ketamina, Diazepan
- Ketamina midazolam
- Propofol
- Ketamina propofol
- Propofol Diazepan

Lo importante durante el mantenimiento es poder monitorear al animal en forma constante mediante no la utilización de monitores sofisticados, sino la utilización de métodos sencillos y la utilización de nuestros órganos de los sentidos. Lo interesante es poder determinar básicamente funcionamiento cardiovascular, aparato respiratorio, profundidad anestésica y termometría clínica.

Tenemos también como complemento a esto, la utilización de bloqueos locales y loco-regionales complementando a nuestras anestésicos locales, lidocaina y bupivacaína, drogas muy sencillas de utilizar y que son dentro del arsenal las más utilizadas para hacer dichos bloqueos.

	infiltrativa	epidural	Bloqueos	paravertebral	Espinal
Lidocaina	10-100 ml	8-18 ml	5-20ml	10-20ml	½ dosis
Bupivacaína	10-80ml	5-15ml	5-20ml	10-20ml	½ dosis

## IMPORTANCIA DE LA *Escherichia coli* Y LAS TOXINAS SHIGA EN LOS SISTEMAS PRODUCTIVOS DE CARNE: LIMITANTES PRODUCTIVAS Y ECONÓMICAS

Natalia Cernicchiaro, D.V.M., M.S., Ph.D.

Department of Diagnostic Medicine and Pathobiology / College of Veterinary Medicine, Kansas State University / 332 Coles Hall, 1800 Denison Ave., Manhattan KS, 66506 USA.

Esta presentación examinará resultados de investigaciones en el que nuestro grupo de trabajo en la Facultad de Veterinaria, en Kansas State University, ha estado trabajando en los últimos 5 años. Ofreceré una introducción sobre *E. coli* productoras de toxinas tipo Shiga, a las que referiré como STEC en el resto de la presentación, y sobre *E. coli* enterohemorrágica o EHEC. Luego cubriré algunos de los puntos que hemos aprendido acerca de la prevalencia y factores de riesgo de STEC y limitantes productivas y económicas, así como compartiré algunas de las actividades que nuestro grupo está realizando actualmente o que realizaremos en el futuro cercano. Gran parte de la presentación cubrirá aspectos de la investigación que he realizado en los Estados Unidos, donde tanto los sistemas productivos como la legislación pueden diferir con respecto a los sistemas y leyes Uruguayos. Sin embargo, para poder ubicar

la situación a nivel regional, el Dr. Andrés Gil, de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República Oriental del Uruguay (UDELAR), amablemente compartió información sobre la investigación de las STECs que ha sido llevada a cabo en Uruguay.

Las bacterias *Escherichia coli*, pertenecen a un grupo heterogéneo de organismos, cuyos miembros son generalmente no patógenos y son parte de la flora normal del tracto intestinal del hombre y los animales. Ciertas poblaciones de esta bacteria han adquirido genes que les permiten causar enfermedad intestinal o extra intestinal. Las *E. coli* que causan enfermedad se han agrupado en patotipos, basados en sus factores de virulencia y los mecanismos por los cuales causan enfermedad. Uno de estos patotipos es el grupo de *Escherichia coli* productoras de toxinas tipo Shiga o STEC, que produce al menos un

tipo de toxinas Shiga. La denominación STEC refiere a cualquier cepa de *E. coli* productora de toxinas de tipo Shiga (*stx*), responsables de la inactivación de ribosomas y de muerte celular. Sin embargo, la inclusión en esta categoría no confirma patogenicidad en ausencia de otros factores de virulencia. Dentro de las STEC, hay un sub-grupo conocido como *E. coli* enterohemorrágica o EHEC que se caracteriza por tener toxinas tipo Shiga, intimina (*eae*) y un receptor Tir para intimina, responsables de la adherencia de las bacterias al epitelio intestinal. Este grupo causa colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Dado la importancia de *E. coli* O157:H7 como productora de casos clínicos de enfermedad gastrointestinal, hospitalización y muerte en humanos, este serotipo fue declarado adulterante de productos cárnicos no-intactos bajo el acto de inspección de carne federal del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) en el año 1994. Más tarde, en Setiembre de 2011, seis STEC serogrupos O26, O45, O103, O111, O121 y O145 fueron también declarados adulterantes de productos cárnicos no-intactos dado que en los últimos años más de 71% de los casos de infección en los Estados Unidos estuvieron asociados a estos serogrupos STEC no-O157.

Dentro de los aspectos epidemiológicos y ecológicos a considerar, ruminantes, especialmente ganado bovino, han sido señalados como los principales reservorios de STEC. Ganado en sistemas de ganadería intensiva representa la principal fuente de infección, así como vegetales, incluyendo lechuga, brotes de soja y de alfalfa, entre otros, los que pueden contaminarse a través de efluentes contaminados con materia fecal provenientes de granjas, los que también han sido implicados en casos esporádicos o brotes asociados a STEC. Otras formas de transmisión de enfermedad incluyen la contaminación cruzada durante la preparación de los alimentos, el contacto directo del hombre con animales y persona a persona por la ruta fecal-oral. Estos microorganismos son eliminados en las heces en forma intermitente y en una concentración variable. De acuerdo a lo reportado en la literatura, la prevalencia fecal en ganado de carne de STEC puede variar entre 10 y 30% con picos de hasta un 80%. Generalmente esos picos se dan en épocas específicas del año, sobre todo durante los meses de verano. Además de la estacionalidad, se han identificado otros posibles factores de riesgo para la presencia de STEC incluyendo la dieta, ambiente y manejo productivo, y presen-

cia de animales salvajes.

La prevalencia y concentración de muchos patógenos transmitidos por los alimentos exhiben patrones estacionales. Mientras gran cantidad de estudios han descrito un patrón estacional para *E. coli* O157:H7 en Ganado, carne picada y casos de enfermedad humana, es difícil relacionar los resultados de los diferentes estudios y determinar las interrelaciones que guían el patrón estacional de los casos de enfermedad humana asociadas a productos cárnicos. El estudio escrito por Williams y colaboradores (Williams et al., *Foodborne Path. Dis.* 7(2010):1247-1254) utilizó un modelo para facilitar la comparación entre datos para así relacionar la prevalencia en ganado en pie con carne picada y enfermedad en humanos. Los resultados son intuitivos y respaldan el que un incremento estacional de *E. coli* O157:H7 en ganado incrementa la prevalencia en carne picada y el incremento correspondiente en la tasa de casos humanos.

En base a la literatura, algunos resúmenes/trabajos confunden *E. coli* genérica con STEC O157. Muchos estudios asocian la alimentación del ganado con granos con un incremento en la concentración de *E. coli* genérica y ácido-resistente. En contraste, dietas en base a forraje han sido más comúnmente asociadas con un incremento en los niveles de excreción de O157. De acuerdo con Laegreid (1999), la mayoría (> 80%) de los terneros en pastura han sido expuestos a *E. coli* O157 antes del destete, y todos los ranchos tendrían *E. coli* O157 (Laegreid et al., *Epidemiol. Infect.* 123(1999): 291-298). Por otra parte, luego de controlar por la edad de los animales, investigadores no detectaron diferencias en la presencia de STECs en Ganado en cría extensiva (en pastura) o en confinamiento (Renter et al., *Am. J. Vet. Res.* 65(2004): 1367-1376). Otro elemento de la dieta, los granos secos de destilación, son un producto del proceso de producción del etanol. Desde que la industria del etanol se expandió entre los años 2006 y el 2012, gran cantidad de plantas comenzaron a producir granos de destilación modificados. En combinación, plantas de etanol en USA producen más de 14 billones de galones de etanol y 39 millones de toneladas de granos de destilación. Se utilizan en niveles del 10 al 40% dependiendo del precio del maíz. Diferentes tipos de granos son usados, incluidos maíz y trigo. Por ejemplo en la producción de cerveza o whisky, granos como el maíz, son molidos hasta que adquieren una

consistencia gruesa, a los que se les agrega agua caliente. Luego de que esa masa se enfría, diferentes levaduras son agregadas y la mezcla se deja fermentar por varios días a una semana. Los productos sólidos que quedan luego de la fermentación, son los granos de destilación. Hay dos tipos principales, granos destilados húmedos que contienen primariamente los residuos de granos no fermentados; la vida útil de estos productos es de no más de 5 días. Por otro lado, los granos destilados secos son esos mismos residuos desecados, lo que extiende su vida útil casi indefinidamente. Estos granos son usados como ingrediente de raciones para dietas de ganado y aves. Son ricos en proteína, grasa, minerales y vitaminas.

Muchos productores de ganado han adoptado métodos de producción considerados "nichos de marketing", para satisfacer la demanda de consumidores por carne segura y saludable. Los dos nichos principales para productores de ganado vacuno son los relacionados con producción orgánica y natural. Producción de carne "orgánica", regulada por USDA, requiere de la alimentación con ración orgánica certificada y la cría de ganado sin el uso de antibióticos, hormonas y otros productos veterinarios. Guías para que los productores puedan designar sus productos como "naturales" difieren dependiendo del tipo de programa. Generalmente estas guías incluyen la completa restricción del uso de antibióticos y hormonas promotoras del crecimiento, pero a diferencia de la producción orgánica, se permite el uso de fuentes no-orgánicas. El impacto de métodos de producción orgánica en la prevalencia de patógenos transmitidos por alimentos, fue estudiado en muestras de materia fecal obtenidas del recto en plantas de faena. Los resultados indicaron que las prevalencia de *E. coli* O157:H7 en la materia fecal de Ganado criado orgánica y naturalmente fueron similares a los obtenidos en Ganado criado en un Sistema "convencional" (Reinstein et al., Appl. Environ. Micro. 75(2009):5421-5423).

*Finalmente, porque es relevante el estudio de STEC?*, todo se traduce, en mi opinión, en dos puntos, impacto en la salud pública e impacto económico. De las 230,000 enfermedades adquiridas domésticamente, cerca de 176,000 son enfermedades transmitidas por alimentos, de las cuales 2,409 hospitalizaciones y 20 muertes, atribuida a STEC, han sido reportadas en los Estados Unidos cada año. El síndrome urémico hemorrágico (SUH), una

de las complicaciones más severas de las enfermedades causadas por las STEC, desafortunadamente tiene una alta incidencia en la región. Específicamente, las tasas de incidencia en Argentina son de aproximadamente 7 casos por cada 100,000 niños de 4 años o menores, incidencia similar a la reportada en Minnesota, Estados Unidos. En Buenos Aires, sin embargo las tasas alcanzan 24 casos por cada 100,000 niños. De acuerdo a datos producidos por el laboratorio de enteropatógenos en la Universidad de Chile, este Síndrome está presente en 5 casos de cada 100,000, seguido por Santiago de Chile con unos 3 casos por cada 100,000 niños.

La importancia de estas enfermedades y la declaración de los seis serogrupos de STEC no-O157 como adulterantes de productos cárnicos sin suficiente evidencia acerca de su epidemiología y ecología fue la motivación para que el USDA abriera un llamado para proyectos coordinados para agricultura, con lo que el proyecto STEC CAP surgió. Este es un proyecto de 25 millones de dólares, en el que participan 12 diferentes instituciones y más de 50 colaboradores con experiencia en diversas áreas. El objetivo es el de mejorar la seguridad cárnica a través de la detección, caracterización, prevención y control de STEC-7 (STEC serogrupos O26, O45, O103, O111, O121, O145 y O157) en la cadena cárnica usando un análisis de riesgos cuantitativo microbiano (QMRA). Los 5 objetivos del estudio comprenden: 1) generación de métodos de detección y caracterización, 2) determinación de factores de riesgo, entendimiento de la epidemiología y ecología, 3) identificación de estrategias para prevención y control de estos patógenos, 4) integración de estos datos en un análisis de riesgos, y 5) educación y entrenamiento de jóvenes científicos y de la siguiente generación y extensión para consumidores. Como colaboradora del objetivo 2, mi énfasis es en el diseño de estudios para entender la epidemiología y ecología de estos organismos, sin embargo también he contribuido a la validación de técnicas diagnósticas y a la identificación de estrategias de intervención para el control de STEC en ganado pre-faena.

*Que hemos aprendido en los últimos años como parte de este proyecto?* Algunos serogrupos O de STEC (O157, O103 y O26) son más prevalentes en heces de ganado de engorde pre-faena, sin embargo la mayoría de muestras no contienen factores de virulencia de tipo Shiga. Por otro lado, el serogrupo O104,

responsable de un brote importante de enfermedad en Alemania y en otros países Europeos en el verano de 2011, afectó aproximadamente 4,000 personas, de las cuales 900 desarrollaron el Síndrome Uremico hemolítico y 54 murieron (Karch et al., EMBO Mol. Med 4(2012):841-848). El agente causal fue identificado como *E. coli* O104:H4, un serotipo híbrido que posee las características de dos patotipos de *E. coli*: *E. coli* productora de toxinas de tipo Shiga (STEC) e *E. coli* enteroagregativa (EAEC). La cepa causante del brote presentó toxinas Shiga tipo 2 (*stx2*) así como genes característicos de EAEC: *aatA* (pAA gen marcador de virulencia plásmido), *aggA* (sub-unidad pilina de adherencia agregativa fimbrial I), *aggR* (regulador transcripcional agregativo de adherencia fimbrial I), pero careció de otros genes característicos de EHEC, como toxina Shiga tipo I (*stx1*), intimina (*eae*) y entero hemolisina (*ehxA*) (Bielaszewska et al., 2011). En un estudio implementado por nuestro grupo, muestras de contenido rectal fueron colectadas de un total de 757 bovinos provenientes 29 feedlots localizados en seis estados del centro oeste de USA (IA, IL, MN, MO, NE y SD). En base a cultivo, O104 fue aislado de 5.7% de los feedlots y 0.5% de muestras de materia fecal. En base a PCR, 21.2% de feedlots y 25.9% de muestras fueron detectadas positivas. De las 146 muestras fecales, 51 aislamientos fueron positivos a O104. Sin embargo, todos los aislamientos fueron negativos a intimina, y 16 de ellos fueron positivos a toxinas de tipo Shiga 1c. El serotipo predominante fue O104:H7. En consecuencia, O104 no es común en heces de ganado; y las cepas no presentan genes de virulencia como las de STEC atípicas vistas en el brote alemán (Shridhar et al., PLoS One 11(2016), March 24).

Por otro lado, en diferentes estudios, hemos encontrado que serotipos de STEC están asociados con otros STEC serotipos en muestras de materia fecal, por ejemplo, muestras de materia fecal que han sido detectadas positivas a *E. coli* O157 son 3 a 9 veces más probables de ser también positivas a O26, O45, O103, O111 (Cernicchiaro et al., J. Food Prot. 77(2014):732-737). Por otro lado, encontramos una alta variabilidad en la prevalencia fecal observada en diferentes potreros de ganado vacuno en sistemas de engorde intensivo.

Uno de nuestros goles dentro del objetivo 2 del proyecto STEC CAP fue el de determinar cuanta evidencia existe en la literatura publicada sobre prevalencia y concentración de

STEC en ganado y en su sistema productivo en los Estados Unidos para así determinar cuáles son las existentes brechas en el conocimiento que nos ayudaran a diseñar estudios enfocados dada la necesidad de maximizar recursos. Para ello, llevamos a cabo una revisión sistemática de la literatura y meta-análisis para compilar, analizar y sintetizar evidencia sobre la prevalencia y concentración de no-O157 STEC en diferentes tipos de muestras de ganado bovino en América del norte (datos no han sido todavía publicados). En base a este estudio, hayamos que existen datos limitados sobre: 1) prevalencia y concentración de STEC en heces, cueros y carcasas en ganado de engorde y de descarte, 2) variabilidad entre muestras, animales, potreros, establecimientos, regiones y estaciones del año, y 3) transferencia microbiana de cuero a carcasas vacunas.

La necesidad de datos empíricos sobre la prevalencia y concentración de *E. coli* no-O157 así como el efecto de la estacionalidad en ganado de carne, fue el motivo por el que diseñamos un estudio observacional para determinar la prevalencia de STEC no-O157 en ganado de engorde en múltiples potreros en un feedlot en los meses de verano e invierno. Este estudio fue conducido en un establecimiento de engorde comercial localizado en el centro de Estados Unidos. Este feedlot puede albergar hasta 85,000 animales y el tamaño promedio de los potreros es de 360 animales. Un total de 24 muestras de materia fecal fueron colectadas en cada uno de dos potreros por semana, por un total de 12 semanas de junio a agosto de 2013, y durante 10 semanas en enero a marzo de 2014. Estos animales eran cruce de razas Británicas que recibieron una dieta de engorde en base a granos previo a su faena. Las muestras fueron sometidas a cultivo incluyendo enriquecimiento en caldo *E. coli* (EC), separación inmunomagnética con perlas específicas, y sembrado en medio de cultivo selectivo, seguido por confirmación del serogrupo O y de los factores de virulencia con multiplex PCR. Los resultados de prevalencia a nivel de potrero para STEC O serogrupos para cada estación indican que todos los STEC O serogrupos de interés. Los valores de prevalencia estimada fueron: 17.8% para O26, 14.6% para O45, 59.9% para O103, 0.2% para O111, 2.0% para O121, 2.7% para O145 y 41.6% para O157. Excepto para O103, la mayoría de los serogrupos estuvieron presentes a menores concentraciones, sin embargo la mayoría de los aislamientos no presentaron genes de vi-



rulencia. Los serogrupos O111, O145, y O157 no fueron detectados en meses de invierno. Proporciones al nivel del potrero para O26, O45, O103, O145 y O157 fueron significativamente diferentes. Los resultados teniendo en cuenta la presencia del serogrupo O, por lo menos una toxina de tipo Shiga e intimina (definición de EHEC) fueron mucho más bajos que para la presencia de serogrupo O solo. EHEC O45, O111, y O121 no fueron detectados durante los meses de verano. En invierno, genes de virulencia no fueron detectados en aislamientos de materia fecal. Hubo diferencias estadísticas entre estaciones en cuanto a la prevalencia de SETC O103 y O157, sin embargo datos en otros STEC fueron limitados. Los resultados de este estudio indican que aunque serogrupos no-O157 estuvieron presentes, fueron raramente detectados en heces de poblaciones de ganado de engorde en verano y la mayoría no presentaron factores de virulencia. STEC serogroups no fueron aislados en invierno. Encontramos diferencias estacionales y una gran variabilidad en excreción fecal entre potreros (Dewsbury et al., *Foodborne Pathog. Dis.* 12(2015): 726-732).

En un siguiente estudio, exploramos la variabilidad entre potreros pero también entre feedlots localizados en diferentes regiones geográficas de los Estados Unidos (datos aun no publicados). El objetivo de este estudio fue el de determinar la prevalencia fecal de seis serogrupos STEC no-O157 y O157 y sus genes de virulencia a nivel de regiones, feedlots, y potreros. Potreros de un total de 8 feedlots comerciales en dos regiones ganaderas fueron muestrados: cuatro feedlots localizados en el estado de Texas y cuatro en la región central de Nebraska. Un total de 16 muestras de materia fecal fueron colectadas de cada uno de cuatro a seis potreros con ganado dos semanas pre-faena, en cada feedlot. Feedlots fueron visitados una vez al mes por tres meses (tres visitas por feedlot) en junio a agosto de 2014. Al momento de la visita un cuestionario fue dirigido al administrador para recabar información sobre características demográficas, de manejo y nutricionales del feedlot. Las muestras fueron refrigeradas y procesadas dentro de 48 horas. Muestras fueron enriquecidas en caldo *E. coli* y sometidas a tres corridas de separación inmunomagnética, una para O157 y dos con perlas en pools para no-O157, seguidas por sembrado en medio selectivo y confirmación basada en multiplex PCR. Los feedlots incluidos en el estudio eran de una capacidad entre 8,000 a 85,000 animales, un promedio

de 56 a 197 novillos o vaquillonas por potrero y con un promedio de días en ración de 55 a 319 días. Cinco de los ocho feedlots engordaban animales de carne, uno ganado lechero de descarte y dos engordaba ambos tipos de ganado. Serogrupo O157 fue el STEC más prevalente seguido por O103, O145, O45, O26, O111 y O121. En total, 100% de feedlots (n = 8) y 62% de los potreros (n = 126) presentaron muestras de materia fecal positivas a O157 STEC, y 100% de feedlots y 23% de corrales para STEC no-O157. Hubo una gran variación en la prevalencia fecal de STEC entre potreros (rango: 0 - 69%). El mes de muestreo, y la composición del potrero (novillos, vaquillonas, ambos) fueron estadísticamente asociadas a la prevalencia fecal de STEC a nivel de potreros. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los factores de riesgos demográficos, nutricionales y de manejo con la prevalencia fecal de STEC a nivel del feedlot.

Con el objetivo de describir cual es la situación a nivel local, el Dr. Andrés Gil de la Facultad de Veterinaria, UDELAR, amablemente compartió datos sobre la investigación de STEC que ha sido llevada a cabo en Uruguay. Apoyo para dicha investigación fueron provistos por el Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU), el Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (MGAP), la Dirección General de Servicios Ganaderos (DIGESEGA), el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) y el Instituto Nacional de Carnes (INAC). El objetivo de este estudio fue el de estimar la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en el sector primario de la producción de carne a través de la implementación de un estudio transversal. Para este estudio, se identificaron del universo de establecimientos, aquellos que remitieron vacunos de las categorías novillo y vaquillonas a las plantas de faena durante el año 2010. La muestra se realizó en dos etapas: 1) un muestreo aleatorio estratificado simple fue realizado para identificar los 104 establecimientos ganaderos a muestrear, 2) muestras de materia fecal de 30 a 50 novillos fueron colectadas por cada establecimiento. Para evitar efectos estacionales, los establecimientos se distribuyeron aleatoriamente en forma equitativa entre los 12 meses del año (11 por mes en promedio). Con este muestreo se esperó detectar con un 95% de confianza al menos un establecimiento positivo si la prevalencia de establecimientos productores era igual o superior al 2.5%. Dentro de los establecimientos se podrá detectar con un 95% de confianza,

aqueellos que tengan una prevalencia de 10% o más de *E. coli* O157:H7 en su población de novillos y vaquillonas para faena. Un 15.4% (16/104) de los establecimientos muestrados consistían de establecimientos de cría en corrales. De un total de 3,328 muestras fecales colectadas, 11.3% (n = 376) fueron detectadas positivas en base a la técnica de Bax-PCR. La prevalencia de *E. coli* O157:H7 en la población de novillos varío de acuerdo al estrato. En los establecimientos con menos de 100 animales, la prevalencia fue de 3.5%, 15.3% para establecimientos con 101 a 250 animales, 21.5% para 251 a 600, 9.4% para 601 a 1000, 9.7% entre 1001 y 2000, y 13.1% para establecimientos con más de 2000 animales. El promedio de prevalencia fecal entre todos los estratos fue de 10.3%. Considerando la estación del año, la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en verano fue de 26.1%, 15.7% en otoño, 4.9% en invierno y 5.4% en primavera.

Más allá de establecer cuál es la situación en Uruguay, es importante determinar cuáles son los pasos a seguir, en cuanto a recursos, infraestructura, percepciones y desafíos que Uruguay enfrenta para prevenir y controlar este patógeno. Algunos de los aspectos a considerar en Uruguay incluyen el determinar cuáles y en qué condiciones se utilizan estrategias de mitigación a nivel de campo en la región, así como cuáles son los aspectos técnicos, operativos y económicos de la implementación de esas estrategias. Bioseguridad, incluyendo higiene en las áreas involucradas con las fuentes de infección como bebederos, fuentes de agua, comederos y alimentos, es favorable no solo para prevenir y controlar *E. coli* sino para controlar otros organismos. Otras intervenciones incluyen la administración de probióticos, vacunas, cambios en la alimentación, limpieza de los animales, y tratamiento con productos antimicrobianos pre-faena, estrategias que vamos a explorar más adelante en esta presentación. Antes de determinar si estas estrategias de intervención podrían ser adoptadas en la región, debemos evaluar si son necesarias y eficaces en las condiciones locales, antes de determinar si son factibles desde el punto de vista técnico, económico y operacional. Para evaluar si la adaptación de estrategias de intervención en la región es factible, Uruguay debe generar más información sobre: 1) la problemática de las STECs para sus diferentes sistemas productivos, 2) conocer mejor los mecanismos epidemiológicos que llevan a la potencial contaminación de las carnes en las condiciones locales, incluyendo clima, suelo, manejo,

y sistemas productivos, entre otros, y 3) evaluar en la industria cárnica, las potenciales medidas de mitigación, su eficacia y viabilidad de implementación, a través del trabajo conjunto de los productores, la industria, los servicios oficiales y la academia.

*Que estrategias de intervención han sido evaluadas para la prevención y control de las STEC en animales previo a la faena?* Diferentes tecnologías han sido evaluadas, sin embargo muy pocas han demostrado eficacia a través de la generación de datos de campo y/o comerciales. Algunas intervenciones han demostrado tener resultados favorables y consistentes, pero sin eficacia perfecta. Aunque es eficaz, investigadores han propuesto que la reducción de la carga de la eliminación fecal de STEC-7 antes de la faena puede beneficiar los procedimientos administrados durante el proceso de la faena. Como resultado, esta oportunidad ha llevado al desarrollo y la investigación de varias intervenciones previas a la faena incluyendo antibióticos, bacteriófagos, dietas, prebióticos, probióticos y vacunas. Sin embargo, en la actualidad hay sólo dos productos pre-faena disponibles comercialmente en los Estados Unidos aprobados para reducir la eliminación fecal de STEC O157: vacunas y microbios alimentados directamente.

En los últimos años ha habido dos vacunas que fueron aprobadas por su capacidad para reducir la excreción fecal de STEC O157. Estas vacunas utilizan dos mecanismos, una de ellas usa el receptor de sideróforo y proteínas porinas o vacuna de tipo SRP (Epi-topix®, licenciada a Zoetis, USA), y la otra se basa en las proteínas de secreción de tipo III (Econiche®, producida por Bioniche, Canadá). La vacuna basada en SRP, la que tiene una licencia condicional desde 2009 en USA, interrumpe la absorción de hierro por las bacterias, conduciendo a la lisis celular, mientras que la producción de anticuerpos contra las proteínas de tipo III impide la adherencia de las vellosidades y la colonización de STEC en el tracto gastrointestinal del ganado. La vacuna que se basa en proteínas de secreción de tipo III, que estuvo aprobada en Canadá, dejó de ser producida. Ambas vacunas demostraron eficacia produciendo más de un 25% de reducción en la excreción fecal de STEC O157 en el ganado vacuno, sin producir efectos adversos de rendimiento excepto los causados por el manejo del ganado en comparación con animales no vacunados. El cuestionario más reciente del Siste-

ma Nacional de Vigilancia de la Salud Animal (NAHMS) de Estados Unidos reportó que 1.4% de feedlots con 1,000 a 7,999 animales, 4.6% de feedlots con 8,000 o más animales, o en combinación 2.4% de todos los feedlots con más de 1,000 animales, utilizaron vacunas para *E. coli* (Epitopix SRP® o Econiche®) (NAHMS, 2013; [https://www.aphis.usda.gov/animal\\_health/nahms/feedlot/downloads/feedlot2011/Feed11\\_is\\_Preharvest.pdf](https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/feedlot/downloads/feedlot2011/Feed11_is_Preharvest.pdf)). Sin embargo, estos datos fueron colectados en el año 2011, cuando ambas vacunas todavía eran producidas comercialmente.

La capacidad de varios prebióticos y probióticos de alterar las poblaciones de bacterias en el rumen del ganado ha sido evaluada. Los prebióticos son compuestos orgánicos no digeribles, tales como oligosacáridos, trisacáridos y fibra dietética, que no pueden ser directamente utilizados por los animales, pero que tienen la capacidad de ser digeridos por poblaciones específicas de la microflora. Los prebióticos tienen la posibilidad de dirigirse a segmentos específicos de la población microbiana por exclusión competitiva o de promover el crecimiento de poblaciones bacterianas beneficiosas. Los microbios alimentados directamente (DFM) o probióticos son otra intervención pre-faena que se ha administrado tradicionalmente en la dieta del ganado para mejorar el rendimiento. Consisten de cultivos microbianos comensales (*Lactobacillus acidophilus* y *Propionibacterium freudenreichii*; Bovamine® and Bovamine Defend®, Nutrition Physiology Company, LLC) que afectan beneficiosamente la microflora del tracto gastrointestinal regulando el crecimiento de poblaciones microbianas deseables o uniéndose físicamente al epitelio gastrointestinal para prevenir la colonización de bacterias patógenas. Algunos estudios han divulgado una reducción en la excreción fecal de STEC entre 20% y 75% con el uso de dosis altas ( $10^9$ ) de DFM y un incremento en el rendimiento con dosis más bajas ( $10^6$ ). Hasta la fecha, el uso de los DFM se ha convertido en una práctica relativamente común en las operaciones de engorde a corral comerciales debido a su potencial capacidad para mejorar el rendimiento del ganado y reducir los patógenos. Sin embargo, se requieren más estudios en establecimientos comerciales para cuantificar su efecto en la inocuidad alimentaria.

El uso de antibióticos para controlar específicamente la eliminación fecal de STEC en el ganado es objeto de controversia. Sin em-

bargo, informes han indicado que el uso de *neomicina*, un antibiótico aminoglucósido, administrado en la ración reduce significativamente la eliminación fecal de STEC O157 en el ganado. A pesar de estos hallazgos, la industria cárnica no ha adoptado el tratamiento con antibióticos como una estrategia de intervención previa a la faena debido a la preocupación sobre la potencial resistencia a los antibióticos.

Los bacteriófagos o fagos, virus que tienen la capacidad de dirigirse específicamente a ciertas bacterias, han indicado reducir STEC O157 cuando administrados en agua, ración y aerosoles. Si bien se requieren de más ensayos antes de su incorporación en las operaciones de engorde a corral comerciales, los fagos están aprobados para uso comercial, como la aplicación por aspersión, a los cueros en las plantas de faena de Estados Unidos, las que generalmente comienzan su aplicación en primavera, a mediados de marzo o abril y hasta el mes de octubre cuando las temperaturas son propicias para el crecimiento y persistencia de las STEC.

Los científicos también han investigado el clorato de sodio como una potencial intervención antes de la faena. Las enterobacterias como STEC -7 son anaerobios facultativos que tienen la capacidad de utilizar el oxígeno para la respiración aeróbica, así como la fermentación anaeróbica. Más específicamente, STEC tiene una enzima nitrato reductasa que permite la respiración y convierte el clorato en un clorito citotóxico dentro de patógenos STEC. Por lo tanto, el uso de clorato de sodio puede ser considerado un producto microbiano selectivo con la posibilidad de reducir la concentración de STEC-7 más de dos logs. Sin embargo, hasta la fecha de sodio clorato no está disponible comercialmente.

Aunque ha habido progreso en la identificación e implementación de estrategias de intervención pre-faena, aún existen una serie de desafíos para la adopción de estas estrategias. Uno de los desafíos consiste en las potenciales implicaciones financieras y la evaluación de los costos y los correspondientes beneficios. Por otro lado, animales que recibieron intervenciones deberían ser valorados por encima del costo de la implementación del programa. Sin embargo, aún no se ha determinado quien pagaría ese Premium, si el productor, la planta, o el consumidor. Otro desafío consiste en la percepción de la opinión pública. Si bien consumidores

quieren un producto seguro, existen connotaciones negativas alrededor de la aplicación de algunas de las estrategias de mitigación existentes.

En un estudio se evaluó la eficacia del uso de la vacuna SRP y de microbios alimentados directamente (DFM) en la prevalencia fecal y de súper-eliminadores de *E. coli* O157:H7 (definido como animales que excretan más de  $10^4$  *E. coli* O157:H7 en sus heces) así como sus efectos en el rendimiento cárnico. El estudio, que consistió en un ensayo controlado de bloques aleatorio (diseño factorial 2 X 2) se llevó a cabo en ganado de engorde comercial, en Nebraska, alimentado con una dieta en base a maíz con 25% de granos de destilería. Un total de 17,148 bovinos, proyectados para estar en una dieta de engorde durante el verano, fue asignado aleatoriamente a 40 potreros en 10 bloques en base a la fecha de asignación. Cada uno de los cuatro potreros dentro de un bloque fue asignado un tratamiento al azar: control, vacuna SRP (VAC), microbios alimentados directamente (DFM), o ambos (VAC + DFM). Se alimentó el DFM (Bovamine®; NPC, LLC;  $10^6$  UFC/animal/día) a lo largo del período de estudio (84 - 88 días). El ganado fue vacunado a la llegada a los potreros y de nuevo tres semanas más tarde (solo dos dosis de la vacuna SRP Epitopix®; Zoetis, LLC) fueron administradas). Los animales en los otros grupos que no recibieron la vacuna, no recibieron placebo y no fueron manejados nuevamente. Muestras fecales frescas (30/potrero) se colectaron por semana durante cuatro semanas consecutivas (días de estudio 52 a 77). Dos procedimientos de cultivo concurrentes se utilizaron para determinar la prevalencia fecal de *E. coli* O157: H7 y la prevalencia de altos excretores. De un total de 4,800 muestras colectadas, 1,522 (31.7%) fueron positivas para *E. coli* O157: H7 y 169 (3.5%) fueron considerados súper excretores. Se utilizaron modelos lineales mixtos para el análisis de datos. No hubo una interacción significativa entre la vacuna y el DFM, ni entre los tratamientos y la semana de muestreo y solo el efecto de la vacuna estuvo estadísticamente asociado a la prevalencia fecal de *E. coli* O157 y de súper excretores. Animales en potreros que recibieron la vacuna tuvieron una menor ( $P < 0.01$ ) prevalencia fecal de *E. coli* O157: H7 (media ajustada  $\pm$  SEM =  $17.4 \pm 3.95\%$ ) y una prevalencia de súper excretores más baja ( $P < 0.01$ ) ( $0.95 \pm 0.26\%$ ) comparado con animales en potreros que no recibieron vacunación ( $37.0 \pm 6.32\%$  y  $4.19 \pm 0.81\%$ , respectivamente). No hubo evidencia de un

efecto significativo de DFM en la prevalencia fecal de *E. coli* O157: H7. Los resultados indican que un régimen de dos dosis de la vacuna SRP reduce significativamente la prevalencia fecal de *E. coli* O157:H7 (eficacia de la vacuna del 53.0%) y la prevalencia de *E. coli* O157:H7 en súper excretores (eficacia del 77.3%) en ganado en potreros de engorde comerciales (Cull et al., Vaccine 30(2012); 6210-6215).

Como parte de este estudio, además de analizar muestras para la detección de *E. coli* O157, también analizamos muestras de ADN extraídas de muestras enriquecidas previamente y mantenidas refrigeradas para detección de serogrupos de EHEC no-O157 (O26, O45, O103, O111, O121, O145) y principales genes de virulencia (*stx1*, *stx2*, *eae*, y *ehxA*) usando un ensayo de PCR multiplex para detección de 11-genes. Modelos mixtos lineales generalizados se utilizaron para analizar los efectos de los tratamientos y hacer comparaciones dentro de cada muestra fecal de la presencia de genes O-específico. Resultados de prevalencia acumulada indicaron que O157 (14.6%), O26 (10.5%), y O103 (10.3%) fueron los serogrupos EHEC más prevalentes. Sin embargo ni la vacuna SRP ni el DFM estuvieron significativamente asociados ( $P < 0.05$ ) con la prevalencia fecal de los seis serogrupos de EHEC no-O157 en el ganado de engorde intensivo. En cada muestra de materia fecal, comparamos la presencia de genes O específicos y encontramos que la presencia del serogrupo O157 esta asociada con una mayor probabilidad ( $P < 0.05$ ) de que los grupos EHEC O26, O45, O103, O121 estén también presentes. Nuestro estudio determino que ni la vacuna SRP ni el DFM afecto significativamente la prevalencia de serogrupos no-O157 EHEC, a pesar de que los serogrupos EHEC no-O157 más prevalentes tienden a estar presentes al mismo tiempo que las cepas EHEC O157 en muestras fecales (Cernicchiaro et al., Journal of Food Protección 77(2014): 732-737).

La siguiente publicación a la que voy a hacer referencia, fue basada en el mismo estudio, pero el enfoque consistió en evaluar los efectos de la vacuna SRP y DFM en el rendimiento y las características de la carcasa. Principales efectos de la vacuna SRP y DFM son reportados ya que no hubieron interacciones significativas entre los tratamientos. Bovinos vacunados tuvieron una menor ganancia de peso total ( $P < 0.01$ ), ganancia diaria de peso ( $P = 0.03$ ), y consumo de materia seca ( $P < 0.01$ ) durante el período en el que los tratamientos fueron administrados, com-



parados con el ganado que no fue vacunado. Bovinos a los que se les administro DFM exhibieron un incremento en la ganancia de peso total ( $P = 0.03$ ) y en el radio ganancia de peso:cantidad de alimento ( $P = 0.05$ ) durante el período de intervención (cuando los tratamientos fueron administrados). El consumo de materia seca se redujo ( $P < 0.01$ ) en los animales vacunados en comparación con los no vacunados durante un período de cinco días inmediatamente después de la revacunación. Una vez completado el período de intervención, el ganado fue manejado de acuerdo al procedimiento operativo estándar del establecimiento y todos los animales fueron alimentados con DFM hasta la faena. En la etapa de la faena, los bovinos vacunados fueron mantenidos por más días en el feedlot ( $P < 0.01$ ) y presentaron un mayor peso de la canal caliente ( $P = 0.01$ ) que los bovinos no vacunados. Sin embargo, el ganado que no recibió DFM durante el período de intervención presentó un mayor peso de la canal caliente ( $P < 0.01$ ) que aquellos alimentados con DFM. El grado de calidad y el rendimiento no difirieron significativamente entre grupos. A pesar de que la magnitud de los efectos del uso de microbios alimentados directamente (DFM) y la vacuna SRP pueden variar entre las poblaciones animales y los sistemas de producción, un mayor entendimiento de los potenciales costos de producción de los programas de control de patógenos pre-faena es esencial si estos programas fueran a ser completamente adoptados por la industria (Cull et al., J. Anim. Sci. 93 (2015): 3144-3151).

Como fue mencionado anteriormente, la viabilidad y el éxito de la implementación de las medidas de mitigación de STEC para la producción de carne segura, dependen del trabajo conjunto de los productores, la industria, veterinarios, servicios oficiales, la academia y expertos en epidemiología, microbiología, biología molecular, patología, nutrición, ciencia de los alimentos, sociología y economía. Los desafíos que la industria cárnica enfrenta son vastos y complejos, incluyendo las consideraciones biológicas, epidemiológicas y ecológicas de estos patógenos, evaluación de costos y beneficios, responsabilidad económica, aceptación y opinión pública, y desafíos regulatorios, presentes y futuros a nivel local e internacional, así como las prioridades sanitarias del momento y región.

En los Estados Unidos específicamente, así como en otras regiones incluso localmente, existen varias iniciativas para fomentar la

inocuidad alimentaria que han sido muy exitosas, incluyendo el programa de aseguramiento de calidad de la carne (Beef Quality Assurance o BQA), el Consejo de seguridad alimentaria de la industria cárnica (Beef Industry Food Safety Council o BIFSCO) y el análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP), entre otros.

El éxito puede ser medido a varios niveles, como por ejemplo a través de la reducción en la incidencia de *E. coli* O157:H7 en casos humanos y el en número de muestras de carne picada detectadas positivas a *E. coli* O157 en los últimos 10 años.

En resumen, en esta presentación exploramos la importancia de las STEC O157 y no-O157 en ganado de carne, la situación de prevalencia en muestras de materia fecal en ganado de engorde en los Estados Unidos así como en base a estudios conducidos en el Uruguay. *Escherichia coli* productora de toxina de tipo Shiga serogrupos O26, O45, O103, O111, O121, O145 y O157 son reconocidos como patógenos transmitidos por los alimentos que ocasionan brotes y producen infecciones, hospitalización y muertes ocasionales en humanos asociados con el consumo de alimentos contaminados. El ganado es reconocido como el principal reservorio de STEC-7, quienes excretan estas bacterias en sus heces, contaminando sus cueros y posteriormente las carcasas durante la faena, u otros alimentos, incluyendo vegetales, a través de efluentes contaminados con materia fecal. Intervenciones administradas previas a la faena con el objetivo de reducir efectivamente la carga fecal de STEC-7, tienen el potencial de reducir los problemas de salud pública y el impacto económico de estas bacterias a través una mejora en la inocuidad alimentaria. Distintos estudios fueron descritos para ilustrar características de la epidemiología de estos patógenos, brechas en el conocimiento, así como para describir el impacto de intervenciones comerciales a administrar pre-faena en ganado de engorde. Un ensayo de campo indicó que la vacuna SRP disponible en el mercado redujo significativamente la prevalencia de STEC O157 en heces y la prevalencia de súper excretores, en comparación con animales no vacunados. Sin embargo, no hubo evidencia de un efecto significativo en la prevalencia de STEC O157 cuando los animales fueron administrados microbios alimentados directamente (DFM). Cuando las características de la canal asociadas con estas intervenciones fueron cuantificadas, los resultados indica-

ron que la alimentación con DFM mejoro el rendimiento, mientras que la vacuna impacto negativamente el rendimiento de los animales. Al momento de la faena, animales vacunados presentaron un mayor peso de la canal caliente, probablemente debido a que estos animales fueron engordados por más tiempo.

### AGRADECIMIENTOS

Sinceros agradecimientos al Comité organizador de las XLIV Jornadas de Buiatría, especialmente a los Drs. Rodolfo Rivero y Lourdes Adrien, y al Centro Médico Veterinario

de Paysandú por la invitación a participar de estas Jornadas, así como a los Drs. Andrés D. Gil y José Piaggio Mazzara de la Facultad de Veterinaria, Universidad de la República Oriental del Uruguay, por la provisión de datos locales y continua colaboración. También muchas gracias a mis colegas de Kansas State University, los Drs. David G. Renter, Michael W. Sanderson y T.G. Nagaraja por la colaboración, y a estudiantes de grado por su ayuda, así como a USDA-NIFA STEC CAP Grant No. 2012-68003-30155 por la financiación de la mayoría de los proyectos descritos en esta presentación.

## ASPECTOS RELEVANTES DE LA TRANSMISIÓN MICROBIANA DEL ANIMAL Y EL AMBIENTE A LA CARCASA: SU REPERCUSIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE CARNE

Natalia Cernicchiaro, D.V.M., M.S., Ph.D.

Department of Diagnostic Medicine and Pathobiology / College of Veterinary Medicine,  
Kansas State University / 332 Coles Hall, 1800 Denison Ave., Manhattan KS, 66506 USA.

Dentro de las bacterias que más preocupan en cuanto a la inocuidad alimentaria en la producción de carne, esta *Escherichia coli* O157:H7 (declarada adulterante en 1994 en Estados Unidos de productos cárnicos no intactos y carne picada por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA)), otras *E. coli* productoras de toxinas tipo Shiga (STEC), incluyendo los serogrupos O26, O111, O103, O121, O145 y O45 (STEC-6; declaradas adulterantes en 2011), además de *Campylobacter*, *Listeria* and *Clostridium perfringens*, *Salmonella*, a pesar de no ser tradicionalmente considerada como un tema "cárnico", en años recientes se ha visto un incremento en el número de brotes de enfermedad en humanos por consumo de carne picada contaminada, por lo que la industria ha sido pro-activa en hacer esfuerzos por entender el mecanismo de transmisión y transferencia de esta bacteria en los productos cárnicos. Bacterias STEC y *Salmonella* son aisladas en ganado "sano", así como en otras especies, y en su ambiente productivo. Una vez excretadas, estas bacterias contaminan el ambiente, agua y vegetales (a través de efluentes contaminados), así como las carcasas durante el proceso de faena a través de cueros contaminados con materia fecal.

Muchas plantas frigoríficas sobresalen en el proceso de control de microorganismos a través de la aplicación de múltiples estrategias para la disminución de las oportunidades de contaminación durante las etapas de faena y fabricación. Sin embargo, existe mínimo control microbiológico de la materia prima (i.e., ganado). A pesar de todas las medidas implementadas a nivel de plantas frigoríficas, todavía ocurren los llamados "días o periodos de alto evento" en el que existe un incremento en el número de muestras positivas a *E. coli* O157:H7 en un corto periodo de tiempo (generalmente dentro de un turno o un ciclo de producción) pero sin que se llegue a instaurar ninguna medida correctiva sanitaria. Razones potenciales para estos eventos incluyen averías o fallas en las intervenciones en la planta de faena, un incremento sustancial en el nivel de patógenos, contaminación a través del cuero, contenidos del tracto gastrointestinal, o durante la manipulación durante el procesamiento (herramientas, equipos y contacto humano). Por ello algunos en la industria cárnica consideran que intervenciones pre-faena deberían ser utilizadas con el objetivo de disminuir la carga bacteriana que el ganado acarrea al llegar a la faena, para así suplementar las intervenciones aplicadas durante