

**ESTIMACION DE LIMITES SUPERIORES DE RIESGO PARA *Escherichia Coli* O157: H7 EN LAS CARNES ROJAS DE URUGUAY**

Gil A.⁽¹⁾, Verdier M.⁽²⁾, Alves J.⁽³⁾,
y Pigurina G.⁽³⁾

⁽¹⁾ Departamento de Bioestadística e
Informática - Facultad de Veterinaria. Lasplacex
1550, Montevideo-Uruguay. adgr@adinet.com.uy

⁽²⁾ Profesión Liberal

⁽³⁾ Dirección de Servicios Técnicos a la Cadena
Agroindustrial - INAC

RESUMEN

Los productos cárnicos con contaminación fecal son una fuente en la transmisión de la *E. Coli* O157:H7 al hombre, al cual producen una colitis hemorrágica que puede ser fatal. En 1999, como parte de los acuerdos comerciales para exportar carne a EEUU, Uruguay debió implementar un plan de muestreos de las producciones con destino a América del Norte. El objetivo del presente trabajo es revisar los datos del período diciembre 2002 - diciembre 2003 a los efectos de evaluar la capacidad del sistema de detectar la presencia de *E. Coli* O157:H7 y estimar el nivel superior de riesgo para los consumidores. Se tomó como base los informes de revisiones del sistema de vigilancia para *E. Coli* O157:H7 del cual participan los establecimientos de faena que exportan al NAFTA. La técnica de laboratorio utilizada fue la de Reveal Coli(, con una sensibilidad de 99,9% y una especificidad de 99,4%. El muestreo consistió en tomar al azar 5 cajas por cada día de producción y extraer una muestra de cada una de ellas. A través de la distribución hipergeométrica se estimó la prevalencia como el porcentaje máximo de cajas que no serían detectadas con una confianza del 95% (ND 95%). Todos los análisis en el período resultaron negativos. El nivel de vigilancia mensual permite aseverar que la posible presencia del agente estaría por debajo del 0,25% que es un valor común en muchos países. El muestreo global del período permite asegurar con un 95% de confianza que si la *E. Coli* O157:H7 ha contaminado la producción, su prevalencia es inferior a 0,0137% (14 por 100.000 cajas de carne), lo cual podría ser utilizado como un estimador máximo de riesgo para las evaluaciones de los productos cárnicos de Uruguay.

ANTECEDENTES

El Instituto Nacional de Carnes, a través de la Dirección de Servicios Técnicos a la Cadena Agroindustrial, solicitó a este equipo de trabajo un relevamiento de los datos de monitoreo para *E. Coli* O157:H7 en la carne bovina que se exporta hacia el NAFTA (EEUU y Canadá)(2). Con este objetivo se planteó la revisión de los informes periódicos generados en el transcurso del año 2003 en las plantas exportadoras de todo el país.

INTRODUCCION

La *E. Coli* es una bacteria que habita normalmente en el intestino de los animales y el hombre. En los últimos años ha emergido una variante patógena para el hombre el serotipo O157:H7. Este serotipo actúa a través de una

toxina similar a la de *Shigella*, produciendo una enfermedad en el hombre que cursa con una colitis hemorrágica con dolor abdominal severo y diarrea, incluyendo como síntomas adicionales vómitos y fiebre. Esta enfermedad se resuelve en un término de 8 días, pero algunas víctimas sobre todo los muy jóvenes desarrollan complicaciones en el 15% de los casos(9). Principalmente el llamado síndrome urémico hemolítico (SUH) que tiene un desenlace fatal en el 3 al 5% de los casos. Los antibióticos no parecen ser de ayuda en el tratamiento, por lo que el mismo es de soporte, principalmente en el manejo de la deshidratación y complicaciones como la anemia y la falla renal. Se considera que el porcentaje de diarreas asociadas a la cepa O157:H7 está entre el 0.6 y 2.4% de todas las diarreas, y a su vez es la responsable de entre el 15 y el 36% de las diarreas o colitis que cursan con hemorragias(3). Si bien los productos cárnicos con contaminación fecal son una fuente importante en la transmisión de esta enfermedad, no se debe desconocer que hay muchas otras tales como: jugos, mayonesa, yogurt, ensaladas, agua recreacional y de bebida y la transmisión de persona a persona(9, 11).

El primer brote de esta enfermedad ocurrió en 1982 en EEUU en los estados de Oregón y Michigan, luego de esto ha sido reportado su aislamiento de enfermos en: Australia, Argentina, Canadá, Chile, China, Checoslovaquia, Francia, Alemania, India, Irlanda, Italia, Japón y Reino Unido3.

En el Uruguay se producen una media de 26 brotes anuales de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), no habiéndose nunca aislado o atribuido a la *E. Coli* O157:H7 su causa.

En los EEUU esta cepa bacteriana es de gran preocupación dado que produce 62,458 casos al año (0.45% de las ETA) y se estima que es responsable de 1.843 hospitalizaciones y 52 muertes al año. El vehículo de la infección es desconocido en el 28% de estos casos, siendo la carne picada responsable del 28%, 31% y 14% de los casos respectivamente, en el período 1994-963. En 1993 se produjo en el estado de Washington un brote asociado con una cadena de comidas «Jack in the Box» a partir de hamburguesas mal cocidas con 700 casos, 151 hospitalizados, 45 con SUH y 4 muertos11. Después de esto, en 1994, el Servicios de Inspección de Alimentos (FSIS) declaró la presencia de *E. Coli* O157:H7 en carne picada como un adulterante e inició un plan de muestreo para su detección. En el período 1994-2002 sobre 42.340 muestras de carne en EEUU se encontraron 0,5% positivas entre muestras de plantas y de ventas al detalle. La presencia de este agente, en los Estados Unidos se ha reportado en el 63% de los feedlots con 1,8% de prevalencia en 11.881 muestras fecales estudiadas8. En el Reino Unido en muestreos realizados en heces tomadas de plantas de faena se encontró un 15,7% de prevalencia, siendo la primavera y el verano las épocas de mayor presencia(5). En otro estudio se vio que un 30% de las carcasas de animales positivos en las heces se encontraban contaminadas frente al 8% de las pertenecientes a animales negativos(4). Uno de los factores asociados positivamente a la presencia de *E. Coli* O157:H7 es el arribo reciente al feedlot y negativamente un peso mayor a las 700 libras(7). Un estudio reciente reporta una prevalencia de 10,2% en muestras fecales de animales de feedlot y un 95,9% de operaciones posi-



tivas(12), en EEUU.

Dentro de los acuerdos comerciales para exportar carne a los EEUU, Uruguay acordó un plan de muestreos de la producción cuyo destino sea América del Norte. Es así que desde 1999 se vienen tomando muestras y chequeando la posible presencia de *E. Coli O157:H7* en producto final, siendo en todos los casos los resultados negativos hasta el presente (enero del 2004) (1, 2, 13). Como corolario de las actividades del sistema de monitoreo supervisado por INAC se plantea como objetivo revisar los datos del período diciembre 2002 - diciembre 2003 a los efectos de poder evaluar la eficiencia del muestreo utilizado para detectar la presencia de *E. Coli O157:H7* en producto final y estimar el nivel de riesgo para nuestros consumidores.

MATERIALES Y METODOS

Se tomaron como base los informes de revisiones del sistema de muestreo para *E. Coli O157:H7* de la cual participaron los 14 establecimientos de faena que exportan al NAFTA. Los datos se agruparon por establecimiento y luego por mes.

La técnica de laboratorio de «screening» utilizada fue la de Reveal Coli (NEOGEN Corp.), AOAC Official Method N° 2000.14 que según el laboratorio productor tiene una sensibilidad de 99,9% y una especificidad de 99,4%. El protocolo de trabajo propuesto por el Instituto Nacional de Carnes (INAC) prevé que la posible presencia de un positivo sea confirmada por el laboratorio del Instituto de Higiene-Facultad de Medicina.

El muestreo según este protocolo consiste en que el día de producción de carnes con destino al mercado del NAFTA se tomarán al azar 5 cajas de la producción, extrayéndose de cada una de ellas una muestra con destino al laboratorio para determinar la posible presencia de *E. Coli O157:H7*.

A los efectos del muestreo se consideró la población

objetivo del mismo las cajas exportadas con destino al NAFTA. El número de estas se estimó en función de las toneladas exportadas, considerando que cada caja pesa aproximadamente 25 kg el número de toneladas se multiplicó por 40. Se define el tipo de muestro como un Muestreo Aleatorio Simple Sin Reposición (MASSR) el cual se puede representar a través de la distribución Hipergeométrica. Derivando los cálculos de los propuestos por Cochran⁶ se utilizó este modelo para determinar en el período considerado (12/2002- 12/2003), con un nivel de confianza del 95% (NC 95%), cual sería el número máximo de A cajas contaminadas con *E. Coli O157:H7* en una población N de cajas exportadas al NAFTA que no se hubieran podido detectar como positivas en n muestras.

El nivel de prevalencia (porcentaje máximo de cajas contaminadas en la población N de cajas) que no serían detectadas con una confianza del 95% (ND 95%) surge como el porcentaje de A con relación a N.

RESULTADOS

Los resultados de todos los análisis en el período fueron negativos, no detectándose la presencia de *E. Coli O157:H7* en ninguna partida de carne producida con destino al NAFTA.

Las gráficas 1 y 2 muestran la relación entre los volúmenes exportados por mes y por establecimiento de faena en relación a la cantidad de muestras extraídas.

En la tabla 1 se resumen los datos por mes de exportación y de muestreo, así como el nivel de detección logrado en función de los tamaños muestrales utilizados. La variación en el nivel de detección se visualiza a través de la gráfica 3. También se observa que la relación de muestras por tonelada es alta.

La gráfica 4 despliega el nivel de confianza logrado en función de la prevalencia para un muestreo de 21.735 cajas de una población de 3.475.731 para un MASSR según la distribución hipergeométrica.

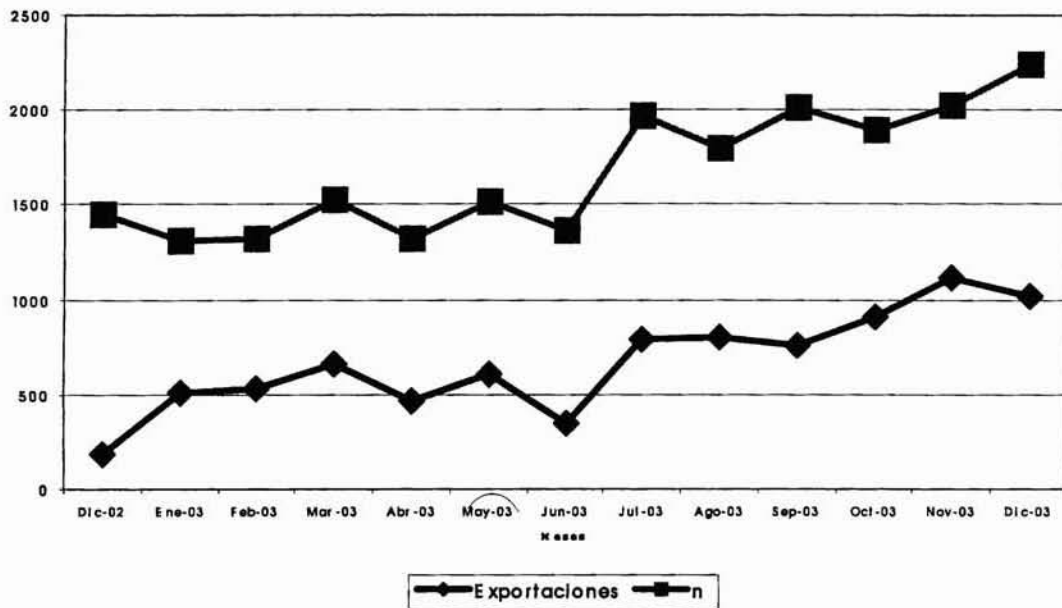
Tabla 1. Exportaciones mensuales de Uruguay hacia Canadá y Estados Unidos de América, número de muestras de monitoreo de *E. Coli O157:H7*, nivel mínimo de detección con una confianza del 95% y relación toneladas exportadas/muestras extraídas.

Mes	Canadá	USA	NAFTA	n	ND 95%	Ton/n
Dic-02	1860	0	1860	1445	0.20509%	1
Ene-03	5033	0	5033	1310	0.22768%	4
Feb-03	5316	0	5316	1320	0.22599%	4
Mar-03	6621	0	6621	1525	0.19568%	4
Abr-03	4693	0	4693	1315	0.22676%	4
May-03	6078	0	6078	1515	0.19693%	4
Jun-03	2519	912	3431	1360	0.21894%	3
Jul-03	1498	6411	7910	1975	0.15109%	4
Ago-03	712	7277	7989	1795	0.16629%	4
Sep-03	803	6783	7585	2015	0.14807%	4
Oct-03	808	8290	9098	1895	0.15755%	5
Nov-03	1107	9998	11105	2020	0.14786%	5
Dic-03	1621	8555	10176	2245	0.13298%	5
Total	38668	48225	86893	21735	0.01374%	4

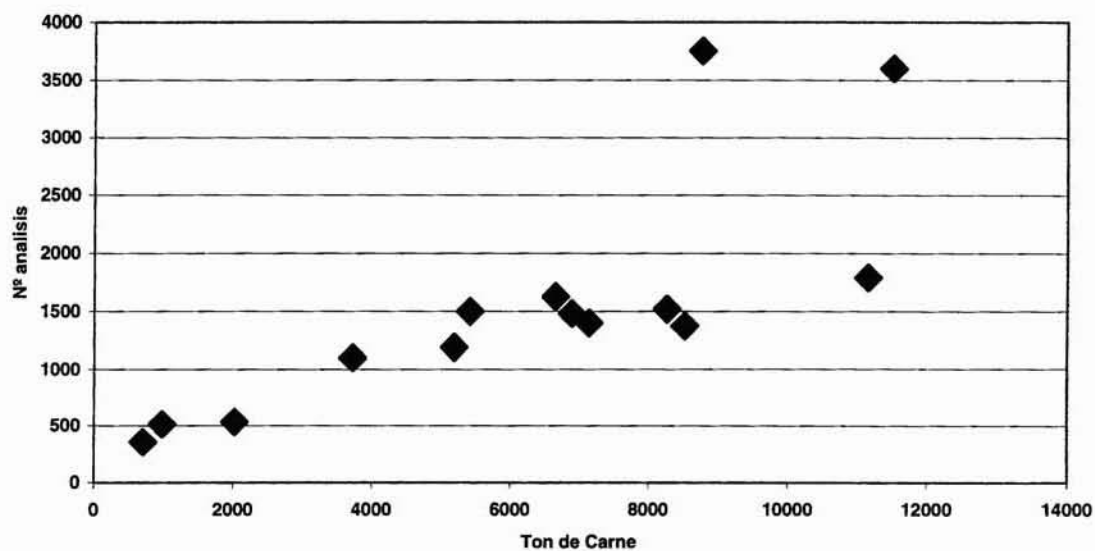
ND 95% = Nivel de Detección con un 95% de confianza.

Nota: La estimación de ND95% está basada en la distribución hipergeométrica para un Muestreo Aleatorio Simple Sin Reposición (MASSR) con resultado negativo y en función del número de cajas muestreadas. Esto se interpreta que con una confianza del 95%, los muestreos realizados son capaces de detectar porcentajes de cajas contaminadas iguales o superiores a los calculados.

Gráfica 1. Número de controles para E. Coli 0157:H7 y decenas de toneladas exportadas al NAFTA mensualmente

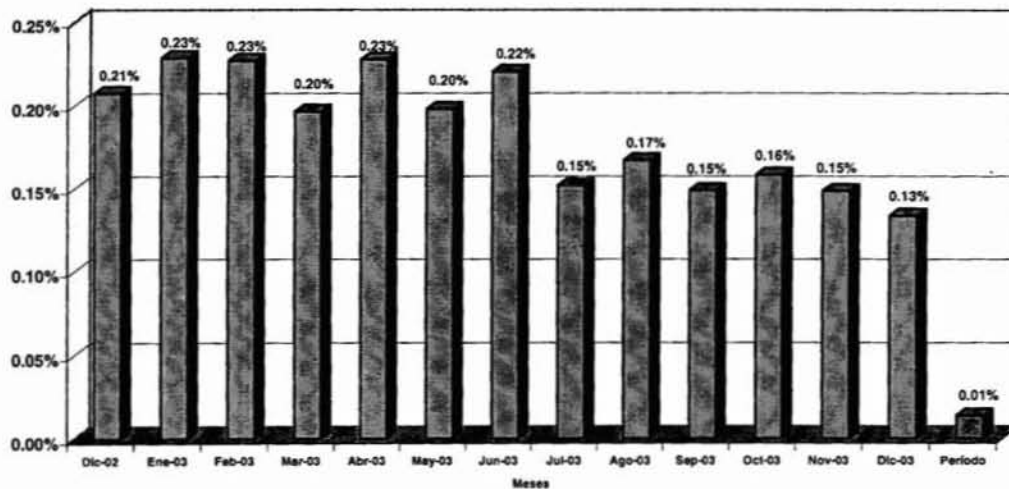


Gráfica 2. Relación entre carne exportada al NAFTA desde Uruguay y número de muestras por establecimiento de faena. 2002 - 2003

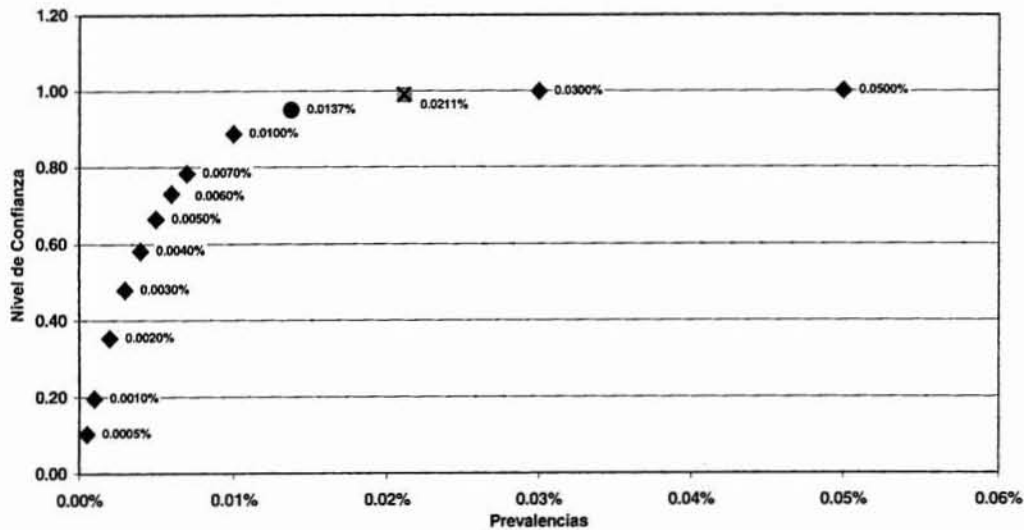




Gráfica 3. Estimación de los niveles de prevalencia de *E. Coli* 0157: H7 detectados con un 95% de confianza en las carnes de Uruguay



Gráfica 4. Nivel de confianza en la detección de *E. Coli* 0157: H7 en función de posibles prevalencias, el tamaño de muestra y la población de exportaciones de cajas de carne del Uruguay al NAFTA del período 12/02 - 12/03



DISCUSION Y CONCLUSIONES

Desde 1999 se ha iniciado el programa de muestreos de carne bovina como producto final con destino al NAFTA y hasta el momento no han surgido evidencias que hagan sospechar la presencia de *E. Coli* 0157:H7 contaminando las mismas. Por otro lado al no haberse identificado nunca este agente en la población humana del Uruguay, la cual es una alta consumidora de carne vacuna, es un indicador que permite afirmar que si bien el riesgo no lo debemos considerar 0 el mismo se aproxima a ese valor.

El nivel de muestreo acompaña tanto a las toneladas exportadas por los establecimientos de faena, así como a las toneladas exportadas mensualmente, lo cual descarta sesgos como la época del año que pudieran afectar los datos (gráficos 1 y 2). El nivel de muestreo mensual, la mayoría de las veces, permite detectar la presencia del agente con una prevalencia menor al 0,25% que es un valor indicado como común en muchos países (gráfico 3). El muestreo global del período en estudio nos permite asegurar con un 95% de confianza que si la *E. Coli* 0157:H7 ha contaminado el producto final su prevalencia es inferior a 0,0137% (14 por 100.000 cajas exporta-

das) lo cual puede ser utilizado como un estimador máximo de riesgo para las evaluaciones de los productos cárnicos de Uruguay (punto rojo en el gráfico 4). El gráfico 4 muestra distintos niveles de confianza de detección para distintas prevalencias lo cual permite al lector estimar la prevalencia para un nivel de confianza requerido, a modo de ejemplo con un nivel de confianza del 90% detectaríamos prevalencias iguales o superiores a 0,0106% (11 por 100.000) y con un nivel de confianza del 99% detectaríamos prevalencias iguales o superiores a 0,0211% (21 por 100.000).

Se puede argumentar que al tratarse de un problema de Salud Pública una sola caja contaminada significa un riesgo que no se está dispuesto a correr y para ese argumento no existe ningún plan de muestreo que nos pueda asegurar que el riesgo es 0. Estas estimaciones están basadas en el plan de muestreo adoptado y no consideran los errores que surgirían de la técnica de laboratorio empleada, no obstante este aspecto, los valores de sensibilidad y especificidad declarados se pueden estimar como muy satisfactorios como para modificar sustancialmente estas estimaciones.

Sin embargo para realizar una evaluación completa del impacto para la salud pública de *E. Coli* cepa O157:H7 se debería realizar un análisis de riesgo que abarcara todos los eslabones de la cadena agroindustrial (desde el «Campo al Plato»). Para este tipo de análisis se debería contar con la prevalencia en la población bovina destinada a la faena así como en los diferentes pasos del proceso industrial de la misma. En el momento no hay información disponible para esto, pero se encuentra avanzado un estudio de prevalencia en la población bovina que están realizando diversas instituciones nacionales con la colaboración de técnicos del Centro de Epidemiología y Salud Animal (CEAH-USDA) y la Universidad Estatal de Colorado (CSU). En función de los resultados que se obtengan, de ser necesario, se podrán evaluar medidas de manejo que puedan reducir significativamente la carga bacteriana en la faena. Mientras los datos del mencionado estudio no estén disponibles, los datos del sistema de monitoreo de producto final en carne vacuna son adecuados para demostrar un nivel sanitario aceptable con relación a la *E. Coli* O157:H7 en el Uruguay, lo cual es coherente con lo que se conoce de la epidemiología del agente.

UPPER RISK LEVEL FOR ESCHERICHIA COLI O157:H7 IN URUGUAYAN RED MEAT.

SUMMARY

Meat products with fecal contamination are a source in the transmission of the *E. Coli* O157:H7 to humans, in which a fatal hemorrhagic colitis can take place. Since 1999, as part of the commercial agreements to export meat to USA, Uruguay agreed to implement a sampling plan of the daily meat production with destination to North America. The main objective of this study is to review the surveillance data of the December 2002 - December 2003 period, to evaluate the likelihood to detect the presence of *E. Coli* O157:H7, and to estimate the upper risk level for consumers. The slaughterhouse's reports of the

surveillance system for *E. Coli* O157:H7 were reviewed. Reveal Coli(was the test used to screen the agent, with a sensibility of 99,9% and a specificity of 99,4%. Five boxes were randomly sampled every day of production of meats for the NAFTA market. The upper limit of the prevalence of positive boxes not detected, with a 95% confidence, was estimated through the hypergeometric distribution. All *E. Coli* O157:H7 tests were negative in the period of this study. The monthly sample size allows to assert that the agent's possible presence would be below 0,25% which is a common value in many countries. The global sampling of the period allows the assurance with a 95% confidence that if the *E. Coli* O157:H7 has contaminated the production its prevalence would be below 0,0137% (14 for 100.000 meat boxes). This estimation could be used as a maximum level of *E. Coli* O157:H7 risk for Uruguayan's beef products.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alves J., Verdier M. 2002. Antecedentes de Escherichia coli O157:H7 en Uruguay. INAC.
2. Alves J., Gil A., Verdier M. 2003. Resultados del programa de certificación de «E. Coli O157:H7». INAC.
3. CEAH-USDA-APHIS-VS. 1997. An update: Escherichia coli O157:H7 in humans and cattle. CEAH 40 pages.
4. Chapman P.A., Siddons C.A., Wright D. J., Norman P., Fox J., Crick E.. 1993. Cattle as possible source of verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 infections in man. *Epidemiol Infect.* 111:439-447.
5. Chapman P.A., Siddons C.A., Cerdan Malo A.T., Harbin M.A. 1997. A 1-year study of Escherichia coli O157 in cattle, sheep, pigs, and poultry. *Epidemiol Infect.* 119:245-250.
6. Cochran W.G. 1977. Sampling techniques. Third edition. John Wiley & Sons. ISBN 0-471-16240-X
7. Dargatz D.A., Wells S.J., Thomas L.A., Hancock D.D., Graber L.P. 1997. Factors associated with the presence of Escherichia coli O157 in feces of feedlot cattle. *J. Food Protection.* 60-5:466-470
8. Hancock D.D., Rice D.H., Thomas L.A., Dargatz D.A., Besser T.E. 1997. Epidemiology of Escherichia coli O157 in feedlot cattle. *J. Food Protection.* 60-5:462-465.
9. Institute of Medicine of the National Academies. 2003. Escherichia coli O157:H7 in ground beef. Review of a draft risk assessment . 161 pages. ISBN 0-309-08627-2.
10. Jacobson L.H., Tagle T.A., Gregory N.G., Bell R.G., Le Roux G., Haines J.M. 2002. Effect of feeding pasture-finished cattle different conserved forages on Escherichia coli in the rumen and faeces. *Meat Sc.* 62:93-106
11. Jacobson M.F. 2002. Petition for the implementation of a new program for microbiological testing of raw beef carcasses and trimming for the presence of *E. coli* O157:H7. Submitted by the Center for Science in the Public Interest to USDA.
12. Sargeant J.M., Sanderson M.W., Smith R.A., Griffin D.D. 2003. Escherichia coli O157 in feedlot cattle feces and water in four major feeder-cattle states in the USA. *Prev Vet Med* 61:127-135.
13. Verdier M., Alves J., Pícurina G. 2001. Resultados del programa de certificación de *E. Coli* O157:H7 en el período abril 2000- abril 2001. INAC.