

**Presencia de *Escherichia coli*, O157:H7 en leche bovina proveniente de la raza Holstein de la campiña de Cajamarca, de la ciudad de Cajamarca**

**Presence of *Escherichia coli*, O157:H7 in bovine milk from the Holstein breed of the Cajamarca countryside, from the city of Cajamarca**

Rodolfo Raúl Orejuela Chirinos<sup>1\*</sup> y Juan Gerardo Arrelucea Acosta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Cajamarca, Av. Atahualpa 1070, C.P. 06003, Cajamarca, Perú

\*Autor de correspondencia: [rorejuela@unc.edu.pe](mailto:rorejuela@unc.edu.pe)

### **Resumen**

El presente trabajo de investigación se realizó en los establos productores de leche de la raza Holstein de la campiña de la ciudad de Cajamarca, Región de Cajamarca - Perú. Se obtuvo un total de 30 muestras al azar de leche bovina de vacas en producción de los diferentes establos lecheros, para realizar los análisis microbiológicos para el aislamiento e identificación de *Escherichia coli* O157:H7. Del total de las 30 muestras analizadas, ninguna resultó positiva a la presencia de esta bacteria en estudio, así mismo, la ausencia de casos de Síndrome Urémico Hemolítico en niños de la ciudad de Cajamarca.

**Palabras clave:** análisis microbiológico, *E. coli*, ganado lechero, niños, Síndrome Urémico Hemolítico

### **Abstract**

The present research work was carried out in the Holstein breed milk producing stables in the countryside of the city of Cajamarca, in the Cajamarca Region - Peru. A total of 30 random samples of bovine milk were obtained from cows in production from the different dairy farms, to perform the microbiological analyzes for the isolation and identification of *Escherichia coli* O157: H7. Of the total of the 30 samples analyzed, none were positive for the presence of this bacterium under study.

**Keywords:** children, dairy cattle, *E. coli*, Hemolytic Uremic Syndrome, microbiological analysis

### **Introducción**

Existen escasos trabajos de investigación referente a la presencia de la bacteria *Escherichia coli* O157:H7 en la leche bovina, especialmente en la región Cajamarca caracterizada como unas de las principales regiones productoras de leche en el País. En febrero del año 2001 como parte del Estudio transversal de los agentes etiológicos de diarrea aguda en la Macrorregión Sur del país, el Laboratorio Referencial de Tacna aisló una cepa

procedente de una muestra de heces de un lactante de 11 meses de edad con un cuadro de diarrea disintérica, identificándola como *E. coli* O157. Esta cepa fue confirmada y caracterizada en el Instituto Nacional de Salud como *E. coli* O157:H7 toxina shiga tipo II, siendo el primer aislamiento reportado de *E. coli* enterohemorrágica en el Perú.

En la indagación epidemiológica de junio del 2001, se encontró que este caso clínico de gastroenteritis aguda hemorrágica en el lactante, procedía de la localidad La Esperanza, perteneciente al distrito Alto de la Alianza, de la provincia de Tacna, y que el infante consumía leche materna y leche fresca bovina procedente de la venta ambulatoria por distribución domiciliaria, la cual era expendida en condiciones paupérrimas de higiene como su distribución en valdes plásticos carente de higiene, manipulados en las peores condiciones higiénico sanitarias, con ausencia de procesos de conservación. Así mismo, se detectó en el establo condiciones antihigiénicas de la ordeña y distribución de la leche en recipientes antihigiénicos. Así mismo, se indicó que este lactante no hizo un cuadro clínico de Síndrome Urémico Hemolítico (HUS), secuela muy común en infantes, que es generada al consumir alimentos contaminados con esta bacteria y en muchos de los casos les ocasiona la muerte (Huapaya et. al, 2001).

Muñoz y Méndez (2017), realizaron un trabajo de investigación para aislar *E. coli* O157:H7 a partir de hortalizas de fundos agrícolas en la periferia de la ciudad de Lima, se logró identificar la presente bacteria con una prevalencia del 13.33% del total de las muestras analizadas, indicando una gran preocupación por la presencia de esta bacteria en la zona agrícola y ganadera de la ciudad de Lima.

En un trabajo de investigación sobre el aislamiento y caracterización de *E. coli* O157:H7 a partir de carne molida de bovino en los mercados de abasto de la ciudad de Lima, en la que se analizaron 195 muestras; para el aislamiento y enumeración de *E. coli* O157:H7 se utilizó un enriquecimiento selectivo, medios de cultivo selectivos y análisis bioquímico selectivo (sorbitol) y pruebas serológicas, y para determinar la presencia de shigatoxina (stx1, stx2) e intimina (eae A) se empleó la técnica de PCR multiplex en tiempo real y para entero hemolisina la prueba de hemólisis, encontrándose esta bacteria en 3 muestras (1.54%) especialmente cepas de *E. coli* O157:H7, una stx1 +/ stx2 +/ eae A – y entero hemolisina –, una stx1 +/ stx2 –/ eae A + y entero hemolisina – y la otra stx1 –/ stx2 –/ eae A – y entero hemolisina +. El presente estudio reveló el riesgo potencial de que representa *E. coli* O157:H7 en la población de Lima (Méndez et al., 2013).

*E. coli* O157:H7 fue identificado por primera vez en el año 1982 en casos clínicos en humanos después de que un grupo de comensales en los estados de Michigan y Oregon, de los Estados Unidos, enfermaron tras haber consumido hamburguesas de carne picada bovina contaminadas con el microorganismo (Besser, 1993). La clasificación de *E. coli* enterohemorrágica, fue debido a que causa diarrea sanguinolenta, así como, el nombre de su toxina que se le denomina shiga like toxin, esta bacteria tiene la gran capacidad de producir esta potente toxina generadora de lesiones típicas de adhesión y daño tisular, tanto a nivel entérico (en las microvellosidades) como a nivel renal, generando el Síndrome Urémico Hemolítico causante de muertes en niños. Epidemiológicamente, actualmente considerada como un problema de salud pública (Isaacson, 1993; Fey, 2000).

Algunos trabajos determinan que 2 bacterias en 25 g de alimento son suficientes para causar infección, sin que la bacteria se haya multiplicado en el alimento si no, simplemente, sobrevivido. Para el aislamiento en alimentos no existen hasta el momento normas oficiales reproducibles, sensibles y sencillas, y están en desarrollo varios métodos moleculares. Se han descrito variantes fenotípicas que pueden tener un alto impacto en los porcentajes obtenidos según los métodos de diagnóstico. Los informes de prevalencia en producción primaria, hasta el momento, son difícilmente comparables por causa de los diferentes métodos de muestreo y de laboratorio utilizados Health and Consumer Protection Directorate General- European Commission (1999).

El Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos, del Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ), informó que en el Perú entre los años 1993 y 2001 se registraron 12 brotes de enfermedades producidas por el consumo de productos lácteos, los cuales comprendieron 11,5% del total de casos de enfermedades transmitidas por alimentos en esos años. Estos brotes afectaron a 1278 personas (de ellas, 24 fallecieron). Entre sus agentes causales se encontraban *Salmonella spp.* (30.2%), *S. typhi* (9.5%), *Staphylococcus aureus* (1.6%), *Shigella spp.* (1.6%), *Shigella sonnei* (1.6%) y otras enterobacterias (1.6%). En general, 58.7% de los brotes fueron causados por bacterias. (INPPAZ, 2002). Con respecto a *E. coli* O157:H7, que genera una enfermedad mortal en niños denominada Síndrome Urémico Hemolítico, solo se ha reportado un solo caso en la Región Tacna. En Chile y Argentina la presencia de esta bacteria es bastante común en el ganado Bovino de leche y carne.

En el Perú especialmente en Cajamarca hace cuatro décadas y a la fecha se viene importando ganado procedente de Chile, Argentina, países con alta frecuencia de la presencia de *E. coli* O157:H7 en el ganado bovino de leche y carne, y con alta incidencia de la enfermedad Síndrome Urémico Hemolítico en niños causándoles la muerte, por consumir carne picada y leche contaminados con la bacteria *E. coli* O157:H7 (Sans et al., 1998). Se describen los grupos de *E. coli* enteropatógenos, con especial atención a *Ec.* enterohemorrágica. Algunos serotipos de *E. coli* verotoxigénica o *E. coli* O157:H7 son capaces de producir enteritis hemorrágica, que puede complicarse con el síndrome hemolítico urémico. Esta complicación, se da en particular en los niños y presenta una elevada letalidad. La transmisión a través de los alimentos y la capacidad de producir brotes epidémicos junto a la gravedad de las complicaciones de las enteritis confieren a este microorganismo una gran importancia en salud pública. La epidemiología con respecto a este microorganismo en nuestro país aún está en proceso (Gray, 1995). *E. coli* O157:H7 se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como la leche bovina cruda o mal hervida y sus derivados, productos de carne picada cruda o poco cocida.

La contaminación fecal del agua y de otros alimentos, la contaminación cruzada durante la preparación de estos (con leche y carne de vacuno y otros productos cárnicos, superficies y utensilios de cocina contaminados), también es causa de infecciones. Por tal razón es importante detectar esta bacteria altamente patógena y mortal en niños, en la leche bovina, como materia prima principal en la elaboración de productos lácteos y de consumo directo por su alto valor nutricional. Es por ello, que se deben realizar controles bacteriológicos rigurosos y periódicos en la leche y de sus derivados. Este trabajo de investigación tiene como objetivo determinar la presencia de *E. coli*

O157:H7 en la leche cruda bovina producida en la campiña de Cajamarca.

## Materiales y métodos

### Detección de *E. Coli* O157:H7

Se tomarán 30 muestras de leche bovina de la raza Holstein en establos productores de leche. Se usará la técnica microbiológica, utilizada para la detección e identificación de *E. coli* O157:H7 en la leche bovina proveniente de la campiña de Cajamarca. Para el aislamiento y enumeración de cepas de *E. coli* se utilizó la técnica completa del número más probable mediante tubos múltiples FDA -BAM. Para la caracterización y serotipificación de *E. coli* O157:H7 se empleó la metodología FDA-BAM, realizándose las etapas de pre enriquecimiento y siembra, la primera con caldo EHEC suplementado con cefixime, cefsulodin y vancomicina y la segunda siembra en Agar McConkey sorbitol con cefixime y telurito. Se seleccionaron 10 colonias sospechosas de cada muestra, por ser sorbitol negativas; se trasplantaron a agar TSYE y luego a agar EMB; se aislaron las colonias cuyas características eran de *E. coli* y se sometieron a las pruebas bioquímicas de indol (+), actividad de  $\beta$ -glucuronidasa (MUG) (-); TSI (A/A + Gas), citrato (-), LIA (A/A), Sorbitol (-). Las colonias presuntivas fueron tipificadas con antisueros O157 y H7 – Probac. Se seleccionaron entre 5 a 7 colonias de cada muestra y se sembraron en Agar McConkey Sorbitol para una posterior obtención de una cultura pura.

## Resultados y discusión

En las 30 muestras de leche las que se sometieron a los análisis microbiológicos (aislamiento e identificación mediante pruebas bioquímicas) y serológicas se determinó la ausencia de *Escherichia coli* O157:H7. En el agar Mac Conkey Sorbitol no se pudo observar colonias color blanco cremoso indicador que estas bacterias no fermentaron el sorbitol, asimismo mediante las pruebas bioquímicas ( $\beta$  glucuronidasa negativa). serológicas y mediante el test de Látex no se detectó el serogrupo O157: H7.

**Tabla 1.** Muestras de leche fresca bovina sometidas a los análisis microbiológicos y serológicos

No. de muestra de Leche fresca bovina establos campiña Cajamarca	Presencia/Ausencia de <i>Escherichia coli</i> O157:H7** Resultado	Pruebas serológicas Suero anti: <i>Escherichia coli</i> O157:H7	Látex, serogrupo <i>Escherichia coli</i> O157:H7.
1	Ausencia	-	-
2	Ausencia	-	-
3	Ausencia	-	-

4	Ausencia	-	-
5	Ausencia	-	-
6	Ausencia	-	-
7	Ausencia	-	-
8	Ausencia	-	-
9	Ausencia	-	-
10	Ausencia	-	-
11	Ausencia	-	-
12	Ausencia	-	-
13	Ausencia	-	-
14	Ausencia	-	-
15	Ausencia	-	-
16	Ausencia	-	-
17	Ausencia	-	-
18	Ausencia	-	-
19	Ausencia	-	-
20	Ausencia	-	-
21	Ausencia	-	-
22	Ausencia	-	-
23	Ausencia	-	-
24	Ausencia	-	-
25	Ausencia	-	-
26	Ausencia	-	-
27	Ausencia	-	-
28	Ausencia	-	-
29	Ausencia	-	-
30	Ausencia	-	-

Para la detención de esta bacteria *E. coli* O157:H7 nos hemos basado en sus características bioquímica, son sorbitol negativo, b glucuronidasa negativa) así como, desde el punto de vista inmunológico, estas bacterias son verotoxigénicas, cuya producción de la verotoxina se puede confirmar por una prueba inmunológica demostrando la presencia de las VTs en el sobrenadante del cultivo de los microorganismos, o bien por pruebas serológicas demostrando la presencia del antígeno somático O157 y el antígeno flagelar H7, estos procedimientos biológicos realizados en el presente trabajo de investigación coinciden con los realizado por Prats y sus colaboradores en un trabajo de aislamiento e identificación de *E. coli* O157:H7.

En los países vecinos como Chile y Argentina los bóvidos de leche y carne parecen constituir el principal reservorio de *E. coli* O157:H7 como lo afirma Sans, Viñas y Parma a través de sus trabajos realizados en el año 1998, en el que indican prevalencias que fluctúan en los animales sanos entre el 7 y el 30%, en tal sentido se podría considerar, que por la cercanía con Chile se podrían establecer contagios hacia la ganadería de la región Tacna, por el comercio frecuente de semovientes de leche y de otros productos. En tal sentido amerita realizar trabajos de investigación en la ganadería de Tacna para establecer la presencia de esta Bacteria en estudio.

En otros países desde 1986, diversos grupos de investigadores como Blanco y sus colaboradores que realizaron trabajos prospectivos sobre la patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico de las infecciones producidas por *E. coli* O157:H7 productores de verotoxinas, encontraron una incidencia muy baja de *E. coli* verotoxigénica, inferior al 0.3% de los pacientes estudiados y correspondiendo todos los aislamientos a casos esporádicos debido al consumo de alimentos contaminados con *E. coli* O157:H7. En Cajamarca no existen trabajos sobre la identificación de esta bacteria en la leche bovina y sus derivados, así como, de reportes clínicos de casos de infecciones diarreicas hemorrágicas y del síndrome urémico hemolítico en infantes generados por la bacteria *E. coli* O157:H7, en niños.

En nuestro país a raíz de un estudio transversal de los agentes etiológicos de diarrea aguda en la macrorregión sur del país, realizado por el Laboratorio Referencial de Tacna en la fecha de En febrero del año 2001, encontró un solo caso de enteritis hemorrágica causado por la bacteria *E. coli* O157:H7, en un lactante después de haber consumido leche fresca bovina procedente de los establos de su localidad La Esperanza, perteneciente al distrito Alto de la Alianza, de la provincia de Tacna. Para la identificación de esta bacteria solo se hicieron análisis microbiológicos de las heces provenientes del infante mas no de la leche. Sin embargo existen muchos estudios de ocurrencias epidemiológicas en donde han detectado a esta bacteria en estudio en alimentos como leche bovina, quesos frescos de leche bovina, yogures de leche bovina, hamburguesas de carne bovina, jugos de frutas silvestres etc., por lo que, creemos que se debería de identificar esta bacteria no solo del ganado bovino si no de los alimentos relacionados a estos animales domésticos, como también de las frutas cultivadas y silvestres, ya que nos hace pensar de la presencia de esta bacteria en los animales silvestres. La prevalencia en los animales de este serotipo O157:H7 y de otros serotipos de *E. coli* verotoxigénicos es desconocida, aunque hay informes de su aislamiento en bóvidos, ovinos, cabras, venados, chinchillas, perros y gatos (Frías, 1996).

## **Conclusión**

No se detectó la presencia de esta bacteria *Escherichia coli* O157:H7 en la leche Bovina de la raza Holstein en los establos lecheros de la campiña de Cajamarca. Con respecto a la existencia de casos clínicos de problemas de Síndrome Urémico Hemolítico en niños no se han reportado casos en la ciudad de Cajamarca según lo referenciado por la Dirección regional de Salud de Cajamarca.

## **Recomendaciones**

Se recomienda realizar estudios de identificación de esta bacteria del sistema entérico de los bovinos productores de leche y carne, de los establos de la campiña de Cajamarca.

## Referencias

Huapaya, B.; Huguet, J.; Suárez, V.; Torres, Y.; Montoya, Y.; Salazar, E.; Sakuray, S.; Tejada, C.; Gambirazo, J.; Gómez, J. 2001. Primer aislamiento de *Escherichia coli* O157:H7 Enterohemorrágica en el Perú. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública, 18(1-2), 1-2.

Muñoz, D. 2017. *Escherichia coli* O157:H7 en hortalizas de fundos agrícolas en la periferia de la ciudad de Lima – Perú. [Tesis] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima. 64 p.

Méndez, C.R.; Vergaray, G.; Morante, H.; Flores, P.; Gamboa, R. 2013. Aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* O157:H7 a partir de carne molida de bovino en Lima-Perú. Revista Peruana de Biología, 20(2), 1-6.

Besser, R.; Lett, S.; Weber, J.; Doyle, M.; Barret, T.; Wells, J. 1993. An outbreak of diarrhea and hemolytic uremic syndrome from *Escherichia coli* O157:H7 in fresh-pressed apple cider. JAMA, 269, 2217-2220.

Isaacson, M.; Cantor, P.; Effler, P.; Arntzen, L.; Bomans, P.; Heenan, R. 1993. Haemorrhagic colitis epidemic in Africa. Lancet, 341, 961.

Sans, M.E.; Viñas, M.R.; Parma, A.E. 1998. Prevalence of bovine verotoxin-producing *Escherichia coli* in Argentina. Eur J Epidemiol, 14, 399-403.

Gray, M. 1995. *Escherichia, Salmonella, Shigella and Yersinia*. En: Murray PR editor Manual of Clinical Microbiology. (6ta ed.). Washington: ASM Press, 450-456.

Strockbine, N.A.; Marques, L.R.; Newland, J.W.; Smith, H.W., Holmes, R.K.; O'Brien, A.D. 1986. Two toxin-converting phages from *Escherichia coli* O157:H7 strain 933 encode antigenically distinct toxins with similar biologic activities. Infect Immun, 53, 135-140.

Frías, C. 1996. Estudio de los factores de patogenicidad en *Escherichia coli* enterohemorrágica. [Tesis Doctoral]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona.

Gilligan, P.H.; Janda, J.M.; Karmali, M.A.; Miller, J.M. 1992. Cumitech 12A, Laboratory diagnosis of bacterial diarrhea. Coordinating ed, Nolte FS. Washinton DC: American Society for Microbiology.

Prats, G.; Frías, C.; Margall, N.; Llovet, T.; Gaztelurrutia, L.; Elcuaz, R. 1996. Colitis hemorrágica por *Escherichia coli* verotoxigénica. Presentación de 9 casos. Enferm Infecc Microbiol Clin, 14, 7-15.

Blanco, J.; Blanco, M.; Blanco, J.E.; Alonso, M.P.; Escribano, A. 1993. Patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico de las infecciones producidas por *Escherichia coli* enterohemorrágicos productores de verotoxinas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 11, 324-334.