

PRESENCIA DE *YERSINIA ENTEROCOLITICA* PATÓGENA EN CARNE DE CERDO CRUDA Y QUESO DE CABEZA EN BOGOTÁ

R. P. Gómez-Silva¹

RESUMEN

Introducción: La *Yersinia enterocolitica* es una bacteria entérica, causante de patología, que se encuentra en productos refrigerados como derivados de carne de cerdo, agua contaminada, leche cruda, huevos y mariscos. Esta bacteria soporta temperaturas de congelación, por lo cual es un patógeno contaminante de alimentos de consumo masivo. **Objetivo:** Establecer la presencia de *Y. enterocolitica* patógena en carne de cerdo y en el queso de cabeza distribuido en Bogotá. **Método:** Estudio descriptivo, prospectivo de la detección de *Y. enterocolitica*, en muestras de laboratorio de carne de cerdo y queso de cabeza procedentes de las plazas de mercado y expendios ubicados en las jurisdicciones de las empresas sociales del Estado, Centrooriental, Chapinero, Usaquén, Hospital del Sur, Suba, Usme y Rafael Uribe. **Resultados:** Se analizaron un total de 205 muestras (97 de queso de cabeza y 108 de carne de cerdo cruda). Se encontró *Y. enterocolítica* patógena en el 48,1% de las muestras de carne de cerdo cruda y en el 50,6% de los quesos de cabeza. De las 95 muestras positivas por PCR, solamente se recuperaron por cultivo 6. **Conclusiones:** Se encontró que la presencia de *Y. enterocolitica* patógena en materia prima y en producto terminado (queso de cabeza) es elevada, y ha sido subestimada; por lo tanto, los consumidores tienen un riesgo adicional en salud pública que se debe seguir monitoreando.

Palabras clave: *Yersinia enterocolitica*, carne, productos de la carne, PCR.

PRESENCE OF PATHOGENIC *YERSINIA ENTEROCOLITICA* IN RAW PORK MEAT AND PORK HEAD CHEESE IN BOGOTA

ABSTRACT

Introduction: *Yersinia enterocolitica* are enteric bacteria which cause pathologies that range from soft diarrheas to pseudo-appendicitis. In some cases they can produce extra-intestinal skin and ocular manifestations. It can be found in refrigerated products such as pork meat by-products, contaminated water, raw milk, eggs and seafood. These bacteria withstand freezing temperatures and are a food contaminating pathogen for mass consumption products. **Aim:** To establish the presence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in raw pork meat and head cheese distributed in the city of Bogota. **Method:** 25 g of each sample were weighted and placed in 225 ml of PBS in order to identify the presence of *Y. enterocolitica*. Then they were

¹ Bacterióloga. Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Laboratorio de Salud Pública, Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, Colombia.

incubated at 4°C for 14 days and were PCR Tagman tested to detect pathogenic serotypes of this bacterium. Positive results were confirmed through agar CIN, Mc Conkey and fast biochemical tests. *Design:* A descriptive and prospective study was conducted to detect *Yersinia enterocolitica* in pork meat samples coming from the market places and stores located in the jurisdictions of ESE, Centro Oriente, Chapinero, Usaquen, Hospital del Sur, Suba, Usme and Rafael Uribe. *Results:* A total of 205 samples were analyzed, 97 samples of head cheese and 108 of raw pork meat. Pathogenic *Yersinia enterocolitica* was found in 48.1% of the raw pork meat samples and 50.6 % of the pork head cheese samples. 6 out of 95 PCR positive samples were recovered by cultivation. Other species of *Yersinia* were detected in 22 samples. *Conclusions:* It was found that there is a high presence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in raw meat and finished product (pork head cheese) and has been underestimated. Thus, consumers have an additional public health risk that must continue to be monitored. The PCR Taqman test to detect pathogenic *Yersinia enterocolitica* is a safe, effective, sensible and specific tool to detect this microorganism in pork meat and pork head cheese.

Keywords: Pathogenic *Yersinia enterocolitica*, pork meat, pork head cheese, PCR tagman.

Introducción

El género *Yersinia* comprende tres especies patógenas para el ser humano: *Yersinia enterocolitica*, relacionada con la gastroenteritis; *Yersinia pseudotuberculosis*, vinculada con la adenitis mesentérica, y la *Yersinia pestis*, responsable de la temida peste bubónica. Dentro de la *yersinias* no patógenas que se pueden encontrar con facilidad en los alimentos se encuentran la *Yersinia frederiksenii*, la *Yersinia intermedia*, la *Yersinia kristensenii*, la *Yersinia mollareti* y la *Yersinia bercoveri* (1).

El reservorio animal principal para la *Yersinia enterocolitica* que causa enfermedad humana son los cerdos y productos alimenticios elaborados con carne de cerdo o sus vísceras. Se ha demostrado que en ellos se encuentran los serotipos patógenos de *Yersinia enterocolitica* (O:3; O:8; O:9; O:5,27; O:12,25; O:13a, 13b; O:19; O:20 y O:21) y los órganos en los que se aísla con mayor frecuencia esta bacteria son la lengua, las tonsillas, el ciego, el recto y el tejido linfoide asociado con el intestino, así como en las heces (2). También se han encontrado cepas patógenas de *Yersinia enterocolitica* 2/O:9 en humanos (3).

La transmisión de esta bacteria se ha dado a través de varios productos alimenticios y en diferentes lugares del mundo. En Grecia, se ha

encontrado en alimentos para cerdos, pollos, ovejas y vacas, especialmente del serotipo 0:3 (4). En Irán, en leche cruda (5); en Ankara (Turquía), en quesos y leche cruda (6), y en Suecia (7), en zanahorias y pescados. No obstante, el mayor porcentaje de aislamientos de *Y. enterocolitica* se ha dado en carne de cerdo y en productos derivados de ésta. En un estudio realizado en Alemania se encontró que las vísceras rojas (corazón, hígado, pulmones y riñones) y la carne de cerdo en las plantas de sacrificio pueden ser contaminadas por *Yersinia enterocolitica* presente en las tonsillas del animal, ya que pasan a los otros órganos en el momento de la evisceración, debido a descuidadas prácticas durante este procedimiento (8,9).

En un matadero en Suiza, la prevalencia de esta bacteria fue del 88% en cerdos sacrificados (10), y del 17% en productos derivados de carne de cerdo en Noruega, vendidos en salsamentarias (11). En Estados Unidos, la prevalencia de *Y. enterocolitica* patógena en cerdos recién sacrificados fue del 13,10% (12). En expendios de carne en Múnich (Alemania) se aisló esta bacteria en tablas para picar y en guantes (13). En esta misma ciudad, la ocurrencia de este patógeno en productos elaborados con carne de cerdo cruda varió del 8% al 25% (13). Debido a lo anterior, la ingesta de carne de cerdo cruda

o cocida insuficientemente constituye un factor de riesgo importante para contraer la yersiniosis (1).

La *Yersinia enterocolitica* soporta temperaturas de congelación y es capaz de sobrevivir en alimentos congelados durante períodos prolongados, así como en alimentos empacados al vacío (sin producir gas) (14) y en empaques con atmósferas modificadas (15); sin embargo, es sensible al calor y es destruida por pasteurización.

También puede ser inactivada por radiaciones ionizantes y ultravioleta, por nitrato y nitrito sódico añadidos al alimento; pero muestra resistencia relativa a estas sales en solución y es capaz de tolerar la sal en concentraciones de incluso el 5% (16). La literatura refiere que es posible reducir la población de *Yersinia enterocolitica* en salchichas fermentadas maduradas y almacenadas a 8 °C, en 18 días. A 20 °C o más, el tiempo necesario para reducir la población se acorta entre uno y cuatro para esta bacteria (17).

Al no ser una bacteria demasiado exigente y soportar bien las temperaturas bajas, tiene una gran aptitud para invadir la mayoría de productos alimenticios, sobrevivir y multiplicarse en ellos, incluso a temperaturas de refrigeración. Un estudio del 2008 reveló que el enfriamiento rápido de canales de cerdo no ejerce un efecto significativo en la reducción de la presencia de *Y. enterocolitica* (18).

Es un microorganismo que puede ser transportado por una gran cantidad de productos, como derivados de carne de cerdo (crudos o poco cocidos), agua, leche cruda, algunos vegetales, carne empacada al vacío, huevos duros, pescado hervido y mariscos, sobre todo si ha existido una contaminación cruzada por manipuladores de alimentos.

En alimentos cocidos persiste durante más tiempo que en los alimentos crudos, probablemente por la disponibilidad aumentada de nutrientes. El número de organismos viables puede aumentar más de 10⁶ veces en la carne de res o en la carne de cerdo cocidas en 24 horas a 25 °C o en 10 días a 7 °C (1).

La recuperación de *Yersinia enterocolitica* patógena en alimentos presenta dificultad, debido a los siguientes factores: (a) la cantidad de flora acompañante en el producto, (b) la diversidad de microorganismos que se pueden obtener en el medio de enriquecimiento de la muestra recolectada, (c) la cantidad de microorganismos patógenos que acompañan a la *Yersinia enterocolitica* en la muestra, (d) la cantidad de cepas de *Yersinia enterocolitica* no patógena (serotipos no patógenos) de cepas de *Yersinia enterocolitica* patógena presente en el producto y (e) en los agares selectivos utilizados comúnmente para aislar esta bacteria (agar CIN y MacConkey) no es posible diferenciar las *Yersinias* potencialmente virulentas de otras que pueden estar presentes, así como otras bacterias (19).

Además, un método de recuperación adecuado para un serotipo patógeno no permite aislar otros serotipos de *Yersinia enterocolitica* a partir de la muestra extraída de los alimentos naturalmente contaminados (15). La identificación de *Yersinias* utilizando únicamente reacciones bioquímicas puede ser incorrecta y cuando una cepa no puede ser serotipificada, sí debe determinarse el potencial patogénico de los aislados bacterianos (20).

Sin embargo, técnicas de biología molecular permiten identificar en mayor porcentaje las *Y. enterocolitica* patógenas. Así lo demuestra un estudio en Alemania (15), donde se aisló la *Yersinia enterocolitica* serotipo O:3 en el 18% de los productos de carne de cerdo cruda utilizando dos procedimientos de cultivo; mientras que con una sonda genética utilizando los mismos enriquecimientos se identificó la bacteria en un 60% de las muestras.

En Estados Unidos, un ensayo por reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por su sigla en inglés) demostró una tasa de contaminación del 12,35%, comparado con el 4,08% por el método de cultivo (12). Mediante este método también se ha recuperado *Yersinia enterocolitica* en el 32% de 34 muestras de superficies de carne de cerdo cruda en Nueva Zelanda, donde además

fue cuantificada con el método de número más probable (NMP) (21). Sin duda, el método de PCR se constituye en una herramienta sensible y específica para la detección de patógenos; además, en aquellos lugares donde los recursos son muy limitados, pueden utilizarse pruebas como la PCR multiplex de tres reacciones, no sólo para detectar *Yersinia enterocolitica*, sino para las bacterias ocasionantes de diarrea (22).

Por lo tanto, el propósito de este estudio es conocer si en la carne de cerdo cruda y en el queso de cabeza que consumen los bogotanos hay presencia de la *Yersinia enterocolitica* patógena.

Materiales y métodos

Este es un estudio descriptivo, prospectivo, que recolectó 97 muestras de queso de cabeza y 108 muestras de carne de cerdo cruda a granel, procedentes de plazas de mercado y expendios ubicados en las jurisdicciones de las empresas sociales de Estado (ESE), Centrooriental, Chapiñero, Usaquén, Hospital del Sur, Suba, Usme y Rafael Uribe, en un lapso de 10 meses, entre octubre de 2005 y julio de 2006.

De la muestra recolectada se tomaron 25 g que se homogeneizaron en 100 ml de caldo PBS (*buffer* fosfato salino pH 7,2) y se incubaron a 4 °C durante 14 días. Posteriormente, este cultivo se dispensó en tubos *eppendorf* de 1,5 ml agregando 150 µl de glicerol estéril. Estas preparaciones fueron conservadas a -70 °C antes de ser sometidas a la prueba de PCR de TaqMan.

Para la extracción del ADN se utilizó el reactivo de extracción o solución de lisis *Short prep foodproof I Kit* (Roche diagnostics)®. Antes de ser utilizada, la solución de lisis se mezcló brevemente en la agitadora vortical. Se transfirieron 50 µl del cultivo de enriquecimiento (caldo PBS) a los tubos con la solución de lisis. Luego se incubaron los tubos en un baño seco a 95 °C durante 10 minutos. Enseguida se centrifugaron durante 5 minutos a 8.000 x g. Para las reacciones de PCR se utilizaron 4 µl de cada sobrenadante que se dispensaron en sus corres-

pondientes capilares que contenían 16 µl de la mezcla que se describe a continuación:

Los volúmenes indicados para una muestra con un volumen final de 20 µl por capilar fueron preparados así: 4 µl de LightCycler® *master Mix*, 1 µl de Sonda (4,4 pmol/µl), 1 µl de *primer a* (10 pmol/µl), 1 µl de *primer b* (10 pmol/µl), 9 µl agua grado PCR, para un volumen total de la mezcla por muestra de 16 µl.

La secuencia de la sonda de hidrólisis es: FAM-CAA-GCA-AGC-TTG-TGA-TCC-TCC G-TAMRA y las secuencias para el *primer a*: 5' AAT GCT GTC TTC ATT TGG AGC 3', y para el *primer b*: 5' ATC CCA ATC ACTA CT GAC TTC 3'.

Una vez preparada la solución, se mezcló suavemente y se colocaron 16 µl del PCR Master Mix en los capilares. Se agregaron 4 µl de la muestra al capilar y se sellaron con la tapa antes de adicionar el ADN al siguiente capilar. Para el control negativo se agregaron 4 µl de agua grado PCR. Para el control positivo se agregaron 4 µl de un cultivo positivo de *Yersinia enterocolitica* cepa ATCC 9610. Se centrifugaron los adaptadores del soporte por 5 segundos a 720 x g. Se transfirieron los capilares al carrusel del LightCycler® y se procedió a amplificar el ADN.

El software LightCycler® versión 4.0 incluye los siguientes programas (condiciones de la corrida):

- Preincubación (UNG-incubación a 40 °C durante 2 min y denaturación a 95 °C durante 10 min).
- Amplificación (denaturación a 95 °C, 0 s; anillaje a 59 °C durante 30 s y extensión a 72 °C durante 5 s).
- Melting Curve Analysis (denaturación a 95 °C durante 0 s, anillaje a 40 °C durante 45 s y Melting a 75 °C con una pendiente de 0,1 °C/s).
- Enfriamiento a 40 °C durante 30 s.

La lectura se realiza en el canal 530. A las muestras que fueron positivas para la determinación de la *Yersinia enterocolitica* se les realizó

un procedimiento de cultivo, a fin de tratar de recuperar el microorganismo. Del caldo de enriquecimiento incubado a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ se realizó una descontaminación con hidróxido de potasio y se sembró 0,1 ml de este caldo descontaminado en la superficie de una caja de agar *Yersinia* y en una caja de MacConkey. Se incubaron las cajas a 30°C durante 24 horas y se realizó la lectura de las colonias sospechosas: rosadas pálidas o incoloras, con centro rosado fuerte y borde irregular. Las colonias sospechosas fueron sometidas a una identificación bioquímica rápida con la prueba Rapid 32E de la compañía Biomerieux.

Se analizó la información consignada en las bases de datos del Laboratorio de Salud Pública SILAPS, donde se calcularon proporciones de las variables de sitio de recolección de las muestras, resultados del recuento de *Yersinia enterocolitica* y causas microbiológicas de no aceptabilidad.

Resultados

Gracias al método de detección conocido como *ensayo fluorogénico 5' nucleasa* (TaqMan) se obtuvieron resultados, por la medida de fluorescencia producida durante la amplificación de la PCR sin requerir un proceso posterior. La especificidad del ensayo está dada por el gen de virulencia *yst* (gen de enterotoxina termoestable 5'-6FAM-CAA GCA AGC TTG TGA TCC TCC G-TMR, que solamente lo poseen las cepas patógenas de *Yersinia enterocolitica*), probado con 28 aislados bacterianos de serotipos patógenos y no patógenos de *Yersinia enterocolitica* y otras especies de *Yersinia* y de bacterias entéricas. La prueba con este gen es específica en un 100% para detectar cepas patógenas de *Yersinia enterocolitica* y tiene una sensibilidad de $\geq 10^2$ UFC/ml en cultivos puros y de $\geq 10^3$ UFC/g en muestras de carne de cerdo (17).

Para la extracción del ADN se utilizó el reactivo *Short prep foodproof I kit*, de la casa comercial Roche®, que está diseñado para una preparación rápida de ADN bacteriano y uso directo en PCR a partir de caldo de enriqueci-

miento. Además, con el fin de estandarizar la técnica de detección de *Yersinia enterocolitica* patógena, se realizaron pruebas de especificidad con la cepa ATCC 9610 y con otros microorganismos que pudieran presentar reacción cruzada con ella (23). Entre éstos, se probaron cepas de:

- *Salmonella enteritidis*: ATCC 13076.
- *E. coli*: O157:H7 ATCC 35150.
- *Citrobacter freundii*: ATCC 8090.
- *E. coli*: ATCC 25922.
- *Pseudomonas aeruginosa*: ATCC 9027.

Ninguna de las cepas presentó curva positiva en la prueba de PCR-RT TaqMan para *Yersinia enterocolitica*.

Luego, a fin de determinar la sensibilidad, se cultivó la cepa de *Yersinia enterocolitica* ATCC 9610 en un caldo tipo *Brain Heart Infusion* (BHI) y se incubó a 34°C durante 18 horas. Con el cultivo en fase estacionaria se realizaron diluciones decimales desde 10^{-1} hasta 10^{-10} y se cultivaron en *agar plate count* cuatro copias de cada dilución. De las mismas diluciones se montaron las pruebas de PCR-RT TaqMan para detección de *Yersinia enterocolitica* y éstas resultaron positivas hasta la dilución 10^{-9} (Figura 1).

De las 97 muestras de queso de cabeza y 108 de carne de cerdo cruda recolectadas durante los 10 meses del estudio se encontró: el 77% de las muestras de queso de cabeza se tomaron en un expendio de carne; un 17,5%, en plazas de mercado, y el 5,5% restante, en depósitos y fábricas. Para las muestras de carne de cerdo cruda, el 70,4% fueron muestreadas en expendios, y el 29,6%, en plazas de mercado (Figura 2).

De las 205 muestras analizadas de carne de cerdo cruda y queso de cabeza a granel, 95 (46,3%) fueron positivas para *Yersinia enterocolitica* patógena (Tabla 1). Además, en los análisis de las muestras del queso de cabeza se realizaron pruebas analíticas con el fin de determinar los microorganismos establecidos por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima), (24) para los derivados cárnicos cocidos, donde se incluyen el recuento

Figura 1
Prueba de sensibilidad para la detección de *Yersinia enterocolitica* patógena

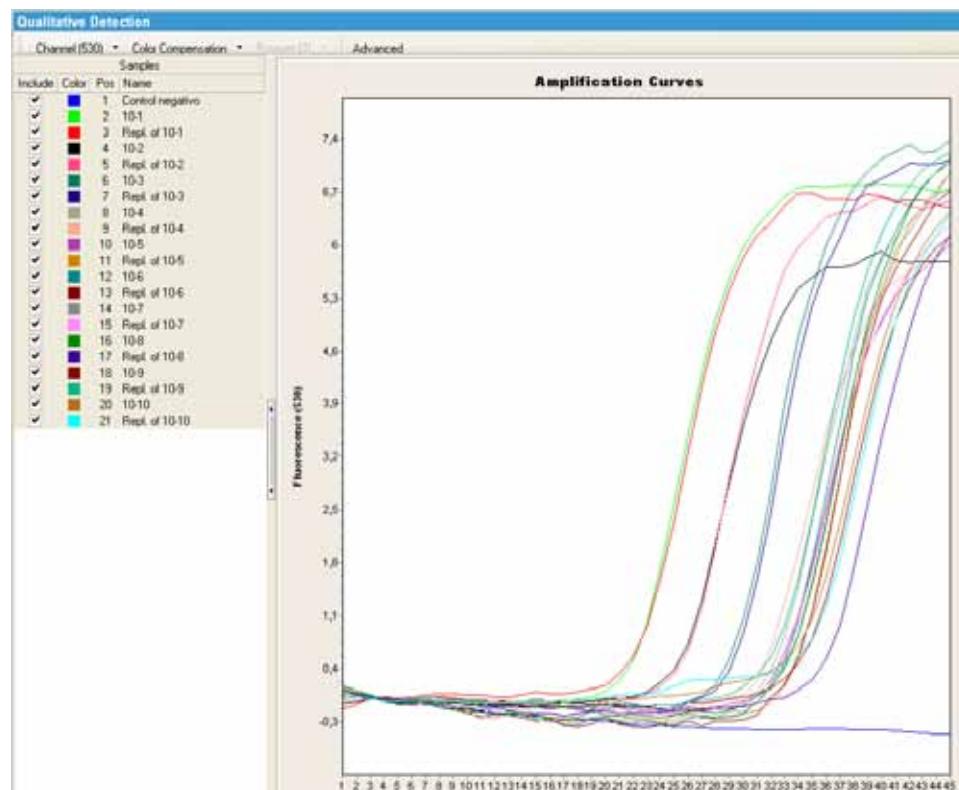
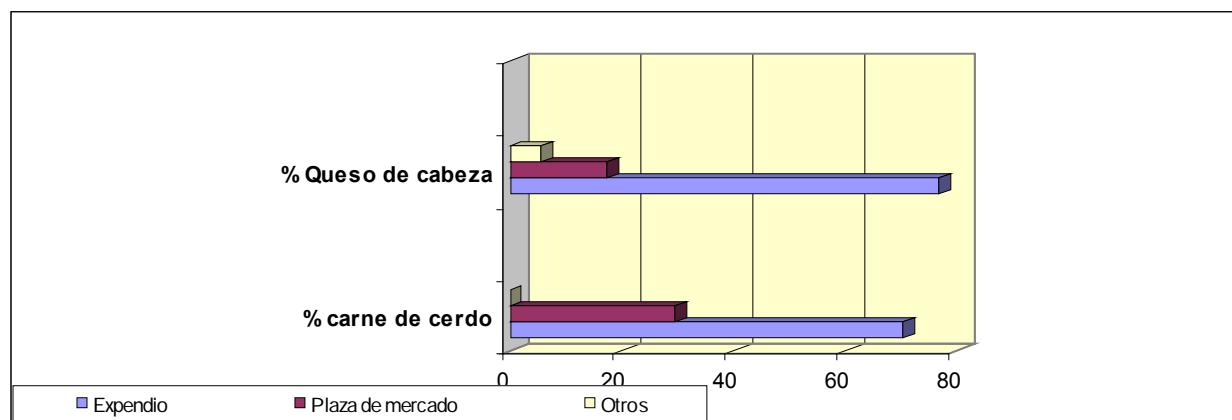


Figura 2
Sitios de recolección de muestras de carne de cerdo y queso de cabeza



de mesófilos aerobios, número más probable de coliformes totales, coliformes fecales, recuento de estafilococo coagulasa positiva, recuento de esporas *Clostridium* sulfito reductor, detección de *Salmonella* y de *Listeria monocytogenes*.

Tabla 1
Resultados de la determinación de *Yersinia enterocolitica* en carne de cerdo cruda y queso de cabeza

Muestra	<i>Yersinia enterocolitica</i> patógena (+)	<i>Yersinia enterocolitica</i> patógena (-)
Carne de cerdo	48,1% (52)	51,8% (56)
Queso de cabeza	44,3% (43)	55,7% (54)

De las 97 muestras de queso de cabeza analizadas en el estudio, fueron aceptables sólo el 12,3% (12) y no aceptables el 87,6% (85). Las causas de esta no aceptabilidad se observan en la Tabla 2.

Tabla 2
Porcentaje de no aceptabilidad en queso de cabeza

Causa de no aceptabilidad	% de no aceptabilidad
<i>Listeria monocytogenes</i>	44,7 (38)
Recuento de mesófilos	82,3 (70)
Número más probable de coliformes	64,7 (55)
Número más probable de coliformes fecales	74,1 (63)
Recuento de estafilococo coagulasa positiva	1,1 (1)

El 41,1% de las muestras de queso de cabeza fueron no aceptables por tres causas diferentes, y el 20,5%, por más de cuatro tipos de microorganismos causales de no aceptabilidad (Tabla 3).

A las muestras positivas para *Yersinia enterocolitica* detectadas mediante la metodología PCR-RT TaqMan se les realizó un procedimiento de recuperación del microorganismo usando caldo de enriquecimiento en PBS, donde se incuban los cultivos durante 24 horas y luego se

leen las colonias sospechosas. A estas colonias se les hace una identificación bioquímica rápida con la prueba Rapid 32E de Biomerieux.

Tabla 3
Porcentaje de muestras de queso de cabeza con más de una causa de no aceptabilidad

Número de causas de no aceptabilidad	%
1	17,6
2	20,5
3	41,1
4	20,5

De las 95 muestras positivas para *Yersinia enterocolitica* identificadas por PCR-RT TaqMan, sólo se recuperaron seis bacterias por el método de cultivo, utilizando el enriquecimiento en PBS; en 67 muestras no fue posible hacer la recuperación de *Y. enterocolitica*. En 22 muestras se detectaron *Yersinias* pero de otras especies (*intermedia* y *frederiksenii*).

Discusión

La presencia de *Yersinia enterocolitica* es alta en las muestras analizadas, lo que representa un alto riesgo para la salud de los consumidores de estos productos, en especial del queso de cabeza, como es el caso de los emparedados, donde el queso se agrega de manera directa sin ningún tratamiento que permita eliminar o destruir los microorganismos patógenos que puedan estar presentes.

En la carne de cerdo que se distribuye en la ciudad esto se puede dar por la manipulación de los alimentos durante el proceso de sacrificio, donde al no aplicar las *buenas prácticas de manufactura*, se permite la contaminación de porciones de carne que de otra manera no deberían estar contaminadas por el microorganismo. Por esto es necesario que este tipo de alimento se someta un efectivo tratamiento térmico antes de ser consumido o en la elaboración de productos derivados.

El elevado porcentaje de no aceptabilidad microbiológica encontrado en el queso de cabeza refleja deficiencias en las condiciones de la

materia prima, efectividad en los tratamientos térmicos e higiene en la elaboración, empaque y distribución. Las autoridades de salud y los manipuladores de alimentos de Bogotá tienen la obligación de ejercer un mayor control en las condiciones sanitarias de las salsamentarías y sitios de elaboración de derivados que utilizan carne de cerdo.

De los cultivos de todas las muestras positivas por PCR-RT TaqMan, solamente se recuperaron seis de *Yersinia enterocolitica*. Aquí se demuestra que la recuperación por el procedimiento de cultivo es muy baja y que, por lo tanto, la técnica de PCR-RT TaqMan es una herramienta muy sensible y específica para detectar este patógeno en carne y queso de cabeza.

Los resultados obtenidos en este estudio estarían demostrando que la detección de *Yersinia enterocolitica* por la técnica de PCR es mucho más sensible que la detección por métodos de cultivo. Así se demostró en un estudio en Alemania (15), donde se aisló *Yersinia enterocolitica* serotipo O:3 en el 18% de los productos de carne de cerdo cruda, utilizando dos procedimientos de cultivo; mientras que con el uso de una sonda genética utilizando los mismos enriquecimientos se identificó la bacteria en un 60% de las muestras.

En un trabajo hecho en Finlandia (25), la prevalencia de *Yersinia enterocolitica* en carne picada que contenía cerdo fue de un 25%. En éste se utilizó el método de detección de PCR, mientras que con el aislamiento en medios de cultivo fue del 2%. De este modo, al comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con los de los estudios de Alemania y Finlandia, se puede concluir que la prevalencia de *Yersinia enterocolitica* en carne de cerdo cruda y en algunos productos terminados se encuentra subestimada, debido a la poca recuperación del microorganismo en medios de cultivo. Además, que las técnicas de biología molecular, como la PCR TaqMan, constituyen una valiosa herramienta para la detección de este patógeno en los alimentos.

Conclusiones

- La presencia de *Yersinia enterocolitica* patógena en materias primas y en productos terminados distribuidos en Bogotá (como el queso de cabeza) se encuentra en una proporción alta, comparativamente con estudios en otros países. El riesgo que tiene esta bacteria en salud pública se ha subestimado, por lo cual es necesario continuar realizando su búsqueda en este tipo de alimentos no solamente en la ciudad de Bogotá, sino en otras también.
- La prueba aplicada de PCR para detección de *Yersinia enterocolitica* patógena es una herramienta útil, segura, efectiva, rápida, sensible y específica para la búsqueda de este microorganismo en carne de cerdo y queso de cabeza.
- El queso de cabeza que se distribuye en Bogotá es un producto de alto riesgo para el consumo, dada la presencia no sólo de *Yersinia enterocolitica* patógena, sino en un porcentaje alto de otros grupos de microorganismos perjudiciales para la salud.

Recomendaciones

- Establecer en la normatividad legal la necesidad de cuantificar la presencia de *Yersinia enterocolitica* patógena en carne de cerdo y queso de cabeza. Con ello se podría confirmar el riesgo para la salud de los bogotanos, en estudios relacionados con investigaciones de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.
- Buscar la *Yersinia enterocolitica* patógena en otros derivados cárnicos que incluyan como ingrediente carne de cerdo, para así disponer de información que permita ejercer un control más efectivo en plantas procesadoras.
- Realizar pruebas para el montaje de la técnica PCR TaqMan en muestras de origen clínico, especialmente en casos de enfermedad diarreica aguda, ya que ha demostrado

- ser sensible y específica para la detección de esta bacteria.
- Promover estudios de identificación de la *Yersinia enterocolitica* en la evaluación de brotes por enfermedades transmitidas por alimentos.
 - Intensificar la vigilancia epidemiológica en las fábricas y expendios de queso de cabeza, con el fin de mejorar las condiciones de elaboración, manipulación y distribución, y así reducir el riesgo para la salud de los consumidores.
 - Solicitar a las autoridades del orden nacional, Ministerio de la Protección Social y el Invima, que se incluya la detección de este microorganismo en los parámetros de evaluación microbiológica en carne de cerdo y en derivados cárnicos procesados con este tipo de carne.
 - Realizar de rutina la identificación de *Yersinia enterocolitica* en muestras de derivados cárnicos elaborados con carne de cerdo en el Laboratorio de Salud Pública.

Agradecimientos

A todas las personas que participaron en este estudio: a los grupos de ambiente de las ESE que recolectaron las muestras; a Elizabeth Vásquez, microbióloga, por su asesoría técnica; al grupo de microbiología de alimentos, y al Laboratorio de Salud Pública, por el apoyo con los reactivos y la infraestructura necesaria para llevar a cabo este trabajo.

Referencias

1. Jay JM. Microbiología moderna de los alimentos. 3a ed. Zaragoza: Acribia; 1994. p. 694-702.
2. Castañeda PE, Díaz Aparicio E, Hernández Andrade L, Jaramillo Arango CJ. Identification and typing of *Yersinia enterocolitica* biotypes and serotypes isolated Rev Saude Publica [internet]. 2001;35(4):380-4. Disponible en: <http://www.scielosp.org/>
3. scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102001000400008&lng=en&nrm=iso>. Okwori AEJ, Ortiz P, Fredriksson-Ahomaa M, Agina SE, Korkeala H. Pathogenic *Yersinia enterocolitica* 2/O:9 and *Yersinia pseudotuberculosis* 1/O:1 strains isolated from human and non-human sources in the Plateau State of Nigeria. Food Microbiol. 2009;26(8):872-5.
4. Kechagia N, Nicolaou C, Ioannidou V, Kourti E, Ioannidis A, Legakis NJ, Chatzipanagiotou S. Detection of chromosomal and plasmid — encoded virulence determinants in *Yersinia enterocolitica* and other *Yersinias* spp. isolated from food animals in Greece. Int J Food Microbiol. 2007;118(3):326-31.
5. Soltan-Dallal MM, Tabarraie A, Moez Ardalan K. Comparison of four methods for isolation of *Yersinia enterocolitica* from raw and pasteurized milk from northern Iran. Int J Food Microbiol. 2004 Jul 1;94(1):87-91.
6. Yucel N, Ulusoy H. A Turkey survey of hygiene indicator bacteria and *Yersinia enterocolitica* in raw milk and cheese samples. Food Control. 2006;17(5):383-8.
7. Lambertz ST, Nilsson C, Hallanvo S, Lindblad M. Real-time PCR method for detection of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in food. Appl Environ Microbiol. 2008;74(19):6060-7.
8. Fredriksson-Ahomaa M, Bucher M, Hank C, Stolle A, Korkeala H. High prevalence of *Yersinia enterocolitica* 4:O3 on pig offal in southern Germany: a slaughtering technique problem. Syst Appl Microbiol. 2001;24(3):457-63.
9. Nesbakken T, Eckner K, Høidal HK, Røtterud OJ. Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat inspection, slaughtering, and dressing procedures. Int J Food Microbiol. 2003;80(3):231-40.
10. Fredriksson-Ahomaa M, Stolle A, Stephan R. Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in pigs slaughtered at a Swiss abattoir. Int J Food Microbiol. 2007;119(3):207-12.
11. Johannessen GS, Kapperud G, Kruse H. Occurrence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Norwegian pork products determined by a PCR method and a traditional culturing me-

- thod. Int J Food Microbiol. 2000;54(1-2):75-80.
12. Bhaduri S, Wesley IV, Bush EJ. Prevalence of pathogenic *Yersinia enterocolitica* strains in pigs in the United States. Appl Environ Microbiol. 2005 Nov;71(11):7117-21.
 13. Fredriksson-Ahomaa M, Koch U, Klemm C, Bucher M, Stolle A. Different genotypes of *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 strains widely distributed in butcher shops in the Munich area. Int J Food Microbiol. 2004;95(1):89-94.
 14. Brightwell G, Clemens R, Urlich S, Boerema J. Possible involvement of psychrotolerant Enterobacteriaceae in blown pack spoilage of vacuum-packaged raw meats. Int J Food Microbiol. 2007;119(3):334-9.
 15. Nesbakken T, Kapperud G, Dommarsnes K, Skurnik M, Hornes E. Comparative study of a DNA hybridization method and two isolation procedures for detection of *Yersinia enterocolitica* O:3 in naturally contaminated pork products. Appl Environ Microbiol. 1991;57(2):389-94.
 16. Johnson JL. Isolation & identification of pathogenic *Yersinia enterocolitica* from meat and poultry products. In: USDA/FSIS Microbiology Laboratory guidebook; 1998. p. 9-28.
 17. Lindqvist R, Lindblad M. Inactivation of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Yersinia enterocolitica* in fermented sausages during maturation/storage. Int J Food Microbiol. 2009;129(1):59-67.
 18. Nesbakken T, Eckner K, Røtterud OJ. The effect of blast chilling on occurrence of human pathogenic *Yersinia enterocolitica* compared to *Campylobacter* spp. and numbers of hygienic indicators on pig carcasses. Int J Food Microbiol. 2008;123(1-2):130-3.
 19. Weagant SD. A new chromogenic agar medium for detection of potentially virulent *Yersinia enterocolitica*. J Microbiol Methods. 2008;72(2):185-90.
 20. Niskanen T, Laukkonen R, Murros A, Björkroth J, Skurnik M, Korkeala H, Fredriksson-Ahomaa M. Characterisation of non-pathogenic *Yersinia pseudotuberculosis*-like strains isolated from food and environmental samples. Int J Food Microbiol. 2009;129(2):150-6.
 21. Hudson JA, King NJ, Cornelius AJ, Bigwood T, Thom K, Monson S. Detection, isolation and enumeration of *Yersinia enterocolitica* from raw pork. Int J Food Microbiol. 2008;123(1-2):25-31.
 22. Gómez-Duarte OG, Bai J, Newell E. Detection of *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio cholerae*, and *Campylobacter* spp. enteropathogens by 3-reaction multiplex polymerase chain reaction. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009;63(1):1-9.
 23. Vishnubhatla A, Fung DY, Oberst RD, Hays MP, Nagaraja TG, Flood SJ. Rapid 5' nuclease (TaqMan) assay for detection of virulent strains of *Yersinia enterocolitica*. Appl Environ Microbiol. 2000;66(9):4131-5.
 24. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima). Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Bogotá: Invima; 1981.
 25. Fredriksson-Ahomaa M, Hielm S, Korkeala H. High prevalence of *yadA*-positive *Yersinia enterocolitica* in pig tongues and minced meat at the retail level in Finland. J Food Prot. 1999;62(2):123-7.

Conflictos de interés: el autor manifiesta no tener conflicto de interés alguno

Correspondencia
R. P. Gómez-Silva

Laboratorio de Salud Pública

Secretaría Distrital de Salud de Bogotá

Cr. 32 Nº. 12-81

Bogotá, Colombia

rpgomez@salucapital.gov.co

rogo169@yahoo.com.mx

Recibido para evaluación: 28-12-09

Aceptado para publicación: 09-09-10

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FISICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE LA CHICHA EN BOGOTÁ

Édgar Hernán Beltrán¹

Rocío Patricia Gómez²

Diana Marcela Mora³

Diana Carolina Obando³

RESUMEN

Introducción y objetivo: En el laboratorio de salud pública de la Secretaría Distrital de Salud se realizó el estudio de caracterización de la bebida fermentada denominada *chicha* durante el Festival de la Chicha, el Maíz y la Dicha, con objeto de evaluar sus parámetros fisicoquímicos y microbiológicos y determinar su inocuidad para la salud del consumidor. *Método:* Se recolectaron 49 muestras, a las que se hicieron análisis microbiológicos y fisicoquímicos. *Resultados:* El análisis microbiológico arrojó un 93,9% de muestras negativas para coliformes fecales; un 93,9% negativas para *Bacillus cereus*; un 100% negativas para salmonella, y de un 42,9% para mohos. El pH obtuvo un valor medio de 3,44 y el grado alcohólico promedio fue de 3,35%, con valor máximo de 5,2%. En ninguna de las muestras analizadas se detectaron trazas de metanol. *Discusión:* El punto óptimo de fermentación de la bebida se obtiene entre 15 y 20 días de desarrollo, con contenidos de etanol alrededor de 4%. Por lo tanto, la bebida no debe expenderse para consumo antes de 15 días de proceso de fermentación. Así, la bebida es inocua para el consumidor; siempre y cuando sea elaborada, almacenada y comercializada siguiendo los procedimientos adecuados para la manipulación de alimentos, utilizando materias primas de buena calidad y educación a los productores y distribuidores.

Palabras clave: bebida fermentada, grado alcohólico, pH, metanol, coliformes fecales, recuento de mohos, *Bacillus cereus*, detección de salmonella.

DETERMINATION OF PHYSICO-CHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PARAMETERS OF THE “CHICHA” DRINK IN BOGOTA

ABSTRACT

Background and objective: Bogota’s Public Health Laboratory (District Secretariat of Health) carried out a study to characterize the fermented drink called “chicha” during the Festival of Chicha, Corn and Happiness with the aim of evaluating its physicochemical and microbio-

¹ Ingeniero químico. Laboratorio de Salud Pública. Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, Especialista en Salud Ambiental.

² Bacterióloga especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Laboratorio de Salud Pública. Secretaría Distrital de Salud de Bogotá.

³ Bacterióloga Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca, Bogotá, Colombia.

logical parameters and determining its innocuousness for consumers' health. *Materials and Methods:* Physicochemical and microbiological analysis were made to 49 samples collected. *Results:* The Microbiological results were as follows: 93.9% of the samples were negative for fecal coliforms, 93.9% were negative for *Bacillus cereus*, 100% were negative for salmonella, and for molds 42.9% of the samples had higher counts of the punctual estimator as a result of highly humid storage locations and the acidity of the drink. The mean pH value was 3.44. The average alcohol content was 3.35% and the top value was 5.2%. No traces of Methanol were detected in the analyzed samples. *Discussion.* The optimal fermentation of the beverage is reached after 15 and 20 days, with an ethanol content of about 4.0%. Therefore, the drink should not be sold for consumption before 15 days of fermentation. The conclusion is that the drink is safe for the consumer as long as it is processed, stored, and marketed according to suitable food handling procedures, good quality raw materials and trained producers and distributors. *Recommendations:* This study is a technical review to be used for future regulations or rules of the drink called "Chicha". It is also a tool to apply surveillance and control actions aimed at improving the production and marketing of that drink.

Keywords: Fermented beverage, alcohol proof, pH, methanol, fecal Coliforms, fungi recount, *Bacillus cereus*, detection of *Salmonella* sp.

Introducción

Según reseñas históricas, la chicha es la bebida alcohólica que resulta de la fermentación del maíz en agua azucarada. El líquido que se obtiene no debe quedar ni muy claro ni muy espeso. Así, se va agregando en un porrón o pipa que ha sido curado con anterioridad, se va revolviendo para que empareje el espesor, agregándole el número de panelas necesarias para endulzar, y se tapa con un paño. Al día siguiente se revuelve con una pala de madera y se va probando. Al cabo de dos o tres días de fermentación ya se puede tomar (1).

Los registros en Colombia sobre la chicha y su producción se remontan a la Conquista y la Colonia, y desde aquellos remotos tiempos hasta el presente siguen produciéndose grandes cantidades en algunas zonas de Bogotá —principalmente en las localidades de La Candelaria y Santa Fe—, donde la siguen consumiendo habitantes y turistas, motivados por un consumo promovido desde tiempos inmemorables (1).

A pesar de que el consumo y producción de la chicha fueron prohibidos en Colombia a comienzos del siglo XX y con fuerza de ley a partir de los sucesos del 9 de abril de 1948 (2,3), lo

que dio paso al mercado de la cerveza, todos los años, en octubre, los habitantes del barrio La Perseverancia de Bogotá celebran el Festival de la Chicha, la Vida y la Dicha. En ese festival se pueden probar las distintas preparaciones, conservadas en la memoria de estos bogotanos y bogotanas.

La chicha, considerada una bebida refrescante o embriagante, es producida a partir de un proceso de fermentación del maíz, y según la bibliografía revisada, este proceso era realizado por mujeres, quienes tomaban un poco de maíz y tenían la tarea de masticarlo poco a poco y escupirlo con fuerza como tosiendo. Luego lo ponían en una jarra con el resto de la mezcla. De no hacerlo así, este vino o bebida no tendría ninguna fuerza. Por último lo hervían por un lapso de tres o cuatro horas, lo dejaban enfriar y lo colaban con un paño. Salía tan perfecto que embriagaba como si fuera verdadero vino. Por tal razón la chicha es considerada, hoy en día por algunas personas, una bebida vulgar (1).

Además, debido a su elaboración artesanal y usualmente dentro de los hogares, uno de los críticos problemas asociados con la producción de la chicha ha sido el de la higiene. La suciedad