

**Detección de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en carne molida de res del Mercado Municipal de Alajuela, Costa Rica**

**Detection of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in ground beef from the Municipal Market of Alajuela, Costa Rica**

**Detecção de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* em carne moída do Mercado Municipal de Alajuela, Costa Rica**

Fressia Johanna Mora Fonseca

Universidad Técnica Nacional, Costa Rica

<https://orcid.org/0009-0003-2705-202X>

**Resumen**

La presencia de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* fue determinada en la carne molida de res comercializada en nueve carnicerías del Mercado Municipal de Alajuela, Costa Rica. Además, se evaluó la higiene presente en dichos lugares con la finalidad de determinar su relación, esto haciendo uso de listas de chequeo, las cuales fueron realizadas tomando en cuenta algunos ítems del Manual de Manipulación de Alimentos del Instituto Nacional de Aprendizaje (INA). Para la realización de los cultivos bacteriológicos de las muestras de carne molida obtenidas fueron utilizados los medios cuantitativos de Petrifilm™ específicos para ambas bacterias. Los resultados demostraron que la carne molida presentaba ambas bacterias, incluso llegando a cantidades incontables, mediante la prueba T-Student se determinó que la media de *E. coli* y *S. aureus* correspondió a 59 UFC/g y 415 UFC/g respectivamente, valores que exceden lo permitido por el RTC 67.04.50:17, lo cual es similar a los reportado por otros países latinoamericanos. Por otro lado, el crecimiento de ambas bacterias no dependió de la categoría de la carne ( $p > 0.05$ ).

**Palabras clave:** *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Carne Molida, Petrifilm™, Salud Pública.

## Abstract

The presence of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was determined in ground beef sold in nine butcher shops in the Municipal Market of Alajuela, Costa Rica. In addition, the hygiene present in these places was evaluated in order to determine their relationship, this making use of checklists which were made taking into account some items of the Food Handling Manual of the National Institute of Learning as its acronym in Spanish is (INA). For the realization of the bacteriological cultures of the ground meat samples obtained, the quantitative Petrifilm™ methods specific to both bacteria were used. The results showed that ground beef had both bacteria, even reaching countless amounts, while the T-Student test determined that the mean of *E. coli* and *S. aureus* corresponded to 59 CFUs/g and 415 CFUs/g respectively, values that exceed what is allowed by the RTC 67.04.50:17, which is similar to those reported by other Latin American countries. On the other hand, the growth of both bacteria did not depend on the meat category ( $p > 0.05$ ).

**Keywords:** *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Ground Beef, Petrifilm™, Public Health.

## Resumo

A presença de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* foi determinada em carne moída vendida em nove açougues do Mercado Municipal de Alajuela, Costa Rica. Além disso, a higiene presente nesses locais foi avaliada para determinar sua relação, usando listas de verificação que foram feitas levando em conta alguns itens do Manual de Manipulação de Alimentos do Instituto Nacional de Aprendizagem (INA). Para as culturas bacteriológicas das amostras de carne moída obtidas, foram utilizados meios quantitativos Petrifilm™ específicos para ambas as bactérias. Os resultados mostraram que a carne moída apresentava ambas as bactérias, mesmo atingindo quantidades incontáveis, por meio do teste T-Student foi determinado que a média de *E. coli* e *S. aureus* correspondia a 59 UFC/g e 415 UFC/g, respectivamente, valores que excedem os permitidos pelo RTC 67.04.50:17, o que é semelhante aos relatados por outros países da América Latina. Por outro lado, o crescimento de ambas as bactérias não dependeu da categoria da carne ( $p > 0,05$ ).

**Palavras-chave:** *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Carne Moída, Petrifilm™, Saúde Pública.

## Introducción

Según Alpizar (2016), la carne molida de res es uno de los tipos de carnes más adquiridos por los consumidores costarricenses. A la vez, este producto pertenece al grupo de alimentos con las tasas más altas de enfermedades transmisibles por su consumo, ya que tienden a estar contaminados con elementos biológicos afectando su inocuidad (Guillén, 2015). En conformidad con el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) sobre límites microbiológicos (Decreto Ejecutivo 41420-COMEX-MEIC-MAG-S) se categoriza este alimento como tipo A, “productos que por su naturaleza, composición, proceso, manipulación y población a la que va dirigida, tienen una alta probabilidad de causar daño a la salud” (2018, p. 73).

Las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) son causadas por más de 250 agentes etiológicos distintos. La globalización de los mercados, la resistencia a los fármacos antimicrobianos de uso veterinario y cambios en los patrones alimenticios por parte de la población, son aspectos que favorecen la aparición de ETA y traen consigo impactos significativos en los comercios internacionales que suponen cargas económicas importantes para los países. Bacterias como *S. aureus* y *E. coli* producen altas tasas de mortalidad a nivel mundial, atribuidas al consumo de alimentos no inocuos producto de la inadecuada manipulación (Palomino *et al.*, 2018).

## Metodología

### Ubicación

El proyecto se desarrolló en nueve locales que comercializan carne molida de res. Estos se encontraban ubicados en el Mercado Municipal de Alajuela, Costa Rica.

## Recolección de la muestra

Las muestras analizadas fueron escogidas de forma selectiva en nueve carnicerías del Mercado Municipal de Alajuela, las cuales comercializan carnes rojas. De cada local se obtuvieron dos muestras de carne molida de res de las categoría premium y económica durante los meses de enero y marzo del 2022, La recolecta de las muestras se realizó de acuerdo con el Instituto de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA, 2016) siguiendo una serie de pautas de modo que aseguraran la preparación, almacenamiento y transporte adecuados, para evitar una posible contaminación que alterara los resultados obtenidos.

## Pruebas para detectar la presencia de *S. aureus* y *E. coli*

Para la detección de las dos bacterias fueron utilizados Medios 3M Petrifilm TM. Para el correcto procesamiento de las muestras e interpretación se tomaron como base las instrucciones de uso en el manual de los fabricantes (3M, 2020). Una vez contadas las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) se realizaron las siguientes hipótesis:

- **Hipótesis nula (H<sub>0</sub>):** las muestras obtenidas no presentan crecimiento bacteriano en cantidad suficiente para afectar clínicamente al consumidor.
- **Hipótesis alternativa (H<sub>a</sub>):** las muestras obtenidas sí presentan crecimiento bacteriano en cantidad suficiente para afectar clínicamente al consumidor.

Para los criterios de la Tabla 1, por un lado, se tomaron como referencia los límites permitidos de UFC/g establecidos por el RTCA 67.04.50:17 (2018), en el caso de *E. coli*. Por otro lado, para *S. aureus* se tomaron como base los criterios establecidos en los apartados 8.2, 8.3 y 8.4 del mismo reglamento, los cuales son para otros productos cárnicos, esto debido a que para esta bacteria no existe un límite establecido en carne molida.

Tabla 1

*Criterios para la caracterización bacteriana de S. aureus y E. coli, basados en los parámetros del RTCA 67.04.50:17*

<b>Criterio para <i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b>Hipótesis</b>
$\leq 100$ UFC/g	Ho
$> 100$ UFC/g	Ha
<b>Criterio para <i>Escherichia coli</i></b>	<b>Hipótesis</b>
Ausencia/25g = 0	Ho
Presencia/25g = 1	Ha

Fuente propia. Adaptado de: RTCA (2018).

Nota: la fuente de la tabla es de elaboración propia.

### Tipos de carne molida

Debido a que la venta de carne molida se categoriza en económica y premium por parte de las carnicerías por muestrear, se optó por realizar el análisis microbiológico a cada tipo. Esto con el propósito de buscar diferencias en el recuento de las cantidades bacterianas en caso de presentarse, por lo que se tomaron en cuenta las siguientes hipótesis:

- **Hipótesis nula (Ho):** las UFC obtenidas del recuento bacteriano son iguales o similares para la carne molida premium y económica.
- **Hipótesis alternativa (Ha):** las UFC obtenidas del recuento bacteriano son diferentes para la carne molida premium y económica.

### Análisis de datos

Los datos obtenidos se analizaron mediante un ANOVA, el cual permitió identificar si entre los tipos de carne molida existió crecimiento bacteriano similar para probar las hipótesis planteadas. También, se aplicó análisis de T-Student para una muestra, con la finalidad de aprobar las hipótesis restantes

y analizar la media de los conteos bacterianos promedios por carnicería. Todos los datos fueron analizados y ejecutados con el Programa R versión 4.1.1.

## Resultados y Discusión

### Crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* en carne molida premium y económica

Debido a que de cada una de las carnicerías se obtuvieron 18 muestras de carne molida premium y 18 de carne molida económica, se decidió evaluar diferencias en el crecimiento bacteriano entre los tipos de carne, por lo que se realizó la prueba ANOVA de un factor para dichas muestras (Tablas 2 y 3).

La media de las UFC para *E. coli* para la carne económica correspondió a 62 UFC/g y para la carne premium 57 UFC/g. Lo cual demuestra que no hay diferencia cuantificable entre ellas. Por otra parte, para *S. aureus* las UFC/g del conteo fueron mayores. Los valores obtenidos de la media correspondieron a 402 UFC/g para la carne económica y 428 UFC/g para la premium, lo que muestra una leve diferencia entre tipos de carne, pero alta entre bacterias.

Por otro lado, para *E. coli* se obtuvo un valor de  $p=0.94$  y para *S. aureus* de  $p=0.84$ . Lo que indica que los resultados no son estadísticamente significativos ( $p>0.05$ ). Por lo tanto, la  $H_0$  planteada se acepta, indicando que las UFC/g obtenidas del recuento bacteriano son iguales o similares para la carne molida premium y económica.

En cuanto al número de UFC/g fue similar para las dos categorías de carne estudiadas, para ambas bacterias. Palacios (2018), en su estudio, no comparó el crecimiento de las bacterias en distintas categorías de carne molida sin embargo, cita que diversos factores externos pueden favorecer la contaminación de la carne a la hora de su elaboración, como malas prácticas de manejo durante la molienda, molinos contaminados o inclusive contaminación cruzada en las cámaras de frío donde esta carne era guardada,

lo que podría indicar que en este estudio se dieron los mismos factores que contribuyeron, así, con la contaminación de ambas carnes, las cuales llevan el mismo proceso de molienda y almacenamiento.

Cabe mencionar que los recortes utilizados como materia prima para elaborar este producto también son expuestos a superficies, instrumentos de corte y otras fuentes de contaminación bacteriana que generan un aporte importante de bacterias al producto final (Cabrera *et al.*, 2020). Algunos carniceros durante la compra de la carne mencionaron que los recortes utilizados durante la molienda en ambas categorías eran los mismos. La única diferencia fue que para la carne económica le agregaban cortes con más grasa.

**Tabla 2**

*ANOVA de un factor para las variables de carne económica y premium, según el análisis microbiológico para E. coli.*

<b>Bacteria</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Media de cuadrados</b>	<b>Valor de F</b>	<b>Valor de P &lt;0.05</b>
<i>E. coli</i>	1	240	240	0.006	0.94
Residuales	34	1339122	39386		

Nota: la fuente de la tabla es de elaboración propia.

**Tabla 3**

*ANOVA de un factor para las variables de carne económica y premium, según el análisis microbiológico para S. aureus.*

<b>Bacteria</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Media de cuadrados</b>	<b>Valor de F</b>	<b>Valor de P &lt;0.05</b>
<i>S. aureus</i>	1	5878	5878	0.042	0.84
Residuales	34	4778143	140534		

Nota: la fuente de la tabla es de elaboración propia.

Para determinar si el modelo de regresión presentaba homogeneidad de varianza se realizó el Test de Breusch-Pagan, el cual dio como resultado para *E. coli* un valor de  $p=0.99$  y para *S. aureus*  $p=0.62$ . Lo que permite decir que

ambas variables cumplen con normalidad, ya que lo esperado es que los valores de  $p$  obtenidos sean mayores a 0.05.

### Comparación de las UFC/g encontradas en el análisis microbiológico con los parámetros del RTCA 67.04.50:17

#### T-Student de una muestra para *E. coli*

Para esta prueba se establece que si existe una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ) entre los valores debido a que  $p = 0.04$ . Por lo tanto, se rechaza la  $H_0$  planteada, lo que indica que las muestras obtenidas sí presentan crecimiento bacteriano en cantidad suficiente para afectar clínicamente al consumidor, debido a esto se acepta la  $H_a$ . Lo anterior se comprueba con la media obtenida del conteo en las 36 placas de cultivo para *E. coli*, la cual fue de 59 UFC/g, esto excedió los valores permitidos por el RTCA 67.04.50:17.

Estos resultados concuerdan con lo mencionado por diversos autores. Por ejemplo, Jara (2015) reportó en su estudio que obtuvo un conteo de  $9.0 \times 10^3$  UFC/g en los mercados municipales de Ecuador. Pérez (2016) encontró  $2.0 \times 10^4$  UFC/g en el mercado de Piura, Perú. Rivera (2018) reportó 50 UFC/g en los supermercados de Chile y, finalmente, López *et al.* (2020) detectaron 540 UFC/g en carnicerías de Nicaragua. En los cuatro casos se exceden los límites permitidos por los reglamentos que rigen en dichos países latinoamericanos, al igual que lo reportado en este estudio.

Estos resultados indican tanto la presencia de materia fecal en la carne molida, como las malas prácticas de manipulación de los alimentos a lo largo de la cadena de producción que pueden ser originarias desde el faenamiento hasta llegar a las despensas (Assis, *et al.*, 2020).

#### T-Student de una muestra para *S. aureus*

Se establece que sí existe una diferencia significativa ( $P < 0.05$ ), ya que el valor de  $p = 0.00$  motivo por el cual se rechaza la  $H_0$  planteada y se acepta la  $H_a$ , ya

que, de igual forma, las muestras obtenidas sí presentan crecimiento bacteriano en cantidad suficiente para afectar clínicamente al consumidor.

Para este trabajo se optó por tomar el valor establecido en los apartados para carnes y subproductos cárnicos 8.2, 8.3 y 8.4 del RTCA 67.04.50:17. El cual establece que la bacteria se debe encontrar en un valor mínimo de 100 UFC/g. No obstante, la media obtenida del conteo en las 36 placas de cultivo para *S. aureus* fue de 415 UFC/g. Por lo que, no se estaría cumpliendo con lo establecido reglamentariamente.

Ahora bien, existen pocos estudios sobre la presencia de esta bacteria en carne molida. No obstante, Jara (2016) obtuvo una media de  $4.7 \times 10^5$  UFC/g, resultado que más bien sobrepasa lo encontrado en este estudio. Similares reportes se han descrito por Thapaliya *et al.* (2017), quienes encontraron hasta  $9.0 \times 10^3$  UFC/g, junto con Galué y Cáceres (2018), que encontraron valores de  $8.8 \times 10^5$  UFC/g. En los tres casos se exceden los valores permitidos y dejan en evidencia la elevada presencia de la bacteria en este tipo de producto.

Lo anterior implica no solo que el consumidor puede exponerse a una intoxicación alimentaria, sino también que se puede estar presentando alta contaminación cruzada en un alimento que no cuenta con una regulación establecida como tal en Costa Rica.

Finalmente, se debe considerar que si bien *S. aureus* y *E. coli* a una temperatura mayor a 72 °C se eliminan o reducen (Moreno, 2010); esto por sí solo no implica que no generen un peligro para la población, ya que, incluso antes de su cocción, los alimentos con presencia de estas bacterias pueden estar contaminados de forma cruzada con otros productos como frutas, verduras, legumbres, entre otros, que usualmente se tienden a consumir crudos, así como utensilios de cocina (Grau, 2020).

Se ha demostrado que la mayoría de los brotes por estas bacterias han sido casos atribuidos a la higiene en las cocinas del consumidor final; por lo que es

aquí donde la contaminación cruzada juega un papel muy importante, el no separar los alimentos cocidos o listos para el consumo de los que no lo están y el utilizar los mismos instrumentos de cocina para distintos alimentos son claros ejemplos de contaminación cruzada que muchas veces terminan en hospitalizaciones (Ebert, 2018).

## Referencias

Alpízar Bermúdez, Y. (2016). Evaluación de los extractos de romero (*rosmarinus officinalis* L) y de oliva (*olea europea* L), como alternativas naturales para conservar el color de la carne molida de res [Tesis de Licenciatura, Universidad Técnica Nacional] <https://repositorio.utn.ac.cr>

Assis, D. C. S., Silva, T. M. L., Brito, R. F., da Silva, L. C. G., Lima, W. G y Brito, J. C. M. (2020). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in bovine meat and meat products over the last 15 years in Brazil: *A systematic review and meta-analysis*. *Meat Science*, 108394. 12-13 doi:10.1016/j.meatsci.2020.108394

Cabrera Díaz, E., Ascencio Anguiano, A. I., Segura García, L. E., Pérez Covarrubias, O. B., Orozco García, A. G., Varela Hernández, J. J., & González González, G. (2020). Impact of failure in good manufacturing practices during the production of ground beef in butcher 's shops at three Municipalities of the Metropolitan Area of Guadalajara. *e-CUCBA*, 7(14), 55-67. <https://doi.org/10.32870/ecucba.v0i14.170>

Ebert, M. (2018). Hygiene Principles to Avoid Contamination/Cross-Contamination in the Kitchen and During Food Processing. *Staphylococcus aureus*. 217-234. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809671-0.00011-5>

Galué, A y Cáceres, K. (2018). Análisis Microbiológico de carne molida de diferentes puntos de venta ubicados en Santa Bárbara de Zulia – Estado Zulia – Venezuela. *Revista Conocimiento Libre y Licenciamento*. 66-76

Grau, C. B. (2020). *Estudio epidemiológico de brotes de listeriosis: interés de técnicas moleculares*. [Trabajo de Maestría, Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza].  
https://zaguan.unizar.es/record/97515/files/TAZ-TFM-2020-1353.pdf?version=1

Guillén, J. O. (2015). *Determinación de la calidad microbiológica de la carne de res en el rastro y carnicerías del municipio de Ipala, departamento de Chiquimula* [Tesis de Licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia].  
<http://www.repositorio.usac.edu.gt/709/>.

Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. (2016). Guía para la manipulación del ítem de ensayo en los laboratorios fisicoquímicos y microbiológicos de alimentos y bebidas. Código; PO03-RM-402/3-G001. 1-8.

Jara, L. V. (2015). *Determinación de Escherichia coli en carne molida comercializada en los mercados municipales: "José Mascote", "Oeste" y "4 Manzanas" de la ciudad de Guayaquil, 2014* [Tesis de Licenciatura, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Químicas].  
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/8129>.

Jara, Y. D. (2016). *Análisis microbiológico de las carnes molidas expandidas en el mercado La Condamine de la ciudad de Riobamba* [Tesis de Licenciatura, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Escuela de Bioquímica y Farmacia]. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4977>

López, J. A., Mejía, M. A y Berrios, V. G. (2020). *Determinación de Escherichia coli O157, en carne molida de res que se expenden en los supermercados del municipio de Managua en el periodo comprendido de marzo-abril 2020* [Monografía de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma Nicaragua, Managua]. <https://repositorio.unan.edu.ni/15837/>

Minnesota Mining and Manufacturing Company. (2020). Manual de usuario 3M PETRIFILM. <https://multimedia.3m.com/mws/media/1938615O/3m-petrifimplate-reader-advanced-instructions-spanish-latam.pdf>

Moreno, G. M y Alejandra, A. (2010). Higiene alimentaria para la prevención de trastornos digestivos infecciosos y por toxinas. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 21(5), 749-755. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(10\)70596-4](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(10)70596-4)

Palacios, C, F. (2018). *Condición higiénico-sanitaria de la carne molida de res comercializada en el mercado modelo de Piura* [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional de Piura]. <https://repositorio.unp.edu.pe/handle/20.500.12676/3064>

Palomino, C. C., González, M. Y., Pérez, S. E, y Aguilar, V. H. (2018). Metodología Delphi en la gestión de la inocuidad alimentaria y prevención de enfermedades transmitidas por alimentos. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 35(3): 483-490. <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3086>

Pérez, P. J. (2016). *Análisis fisicoquímico de proteínas, grasa y almidón incluyendo análisis microbiológico de grupo coliforme, coliformes fecales, Escherichia coli, 32 y Salmonella spp en carne molida ordinaria empacada que se expende en los supermercados de la Ciudad de Guatemala* [Tesis de Licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala]. <https://bibliotecafarmacia.usac.edu.gt/tesis/QF1417.pdf>

Reglamento Técnico Centroamericano. (2018). Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos. Decreto Ejecutivo 41420-COMEX-MEICMAG-S

Thapaliya, D., Forshey, B. M., Kadariya, J., Quick, M. K., Farina, S., O' Brien, A., Nair, R., Nworie, A., Hanson, B., Kates, A., Wardyn, S y Smith, T. C. (2017). Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* in

commercially available meat over a one-year period in Iowa, USA. *Food Microbiology*, 65: 122–129. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.01.015>

PREPRINT