

Artículo Original/ Original Article

[10.18004/mem.iics/1812-9528/2024.e22122402](https://doi.org/10.18004/mem.iics/1812-9528/2024.e22122402)

Buenas Prácticas de Manufactura de carnicerías y frecuencia de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga y *Salmonella* spp. en carne molida de carnicerías de Asunción, Paraguay

Natalie Weiler¹ , María Orrego¹ , Mercedes Álvarez¹ , Flavia Ortiz¹ , Jazmín Martínez¹ , Felicita Dure¹ , *Melisa Florentin¹ , Laura Piris² , José Pérez² , Myrna Domínguez³ , Carla Lacarruba³ , Gerardo Leotta⁴ 

¹Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Laboratorio Central de Salud Pública. Asunción, Paraguay

²Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Instituto Nacional de Alimentación y Nutrición. Asunción, Paraguay

³Municipalidad de Asunción, Asunción, Paraguay

⁴Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET). Buenos Aires, Argentina

Editor Responsable: **María Eugenia Galeano Dinatale** . Universidad Nacional de Asunción, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud, San Lorenzo, Paraguay. Email: maruphd@hotmail.com

**Cómo referenciar este artículo/
How to reference this article:**

Weiler N, Orrego M, Álvarez M, Ortiz F, Martínez J, Dure F, et al. Buenas Prácticas de Manufactura de carnicerías y frecuencia de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga y *Salmonella* spp. en carne molida de carnicerías de Asunción, Paraguay. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud. 2024; 22(1): e22122402.

RESUMEN

La inocuidad de la carne comercializada debe estar garantizada en la cadena de producción, para evitar enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) y *Salmonella* spp. pueden encontrarse en el tracto gastrointestinal de los bovinos y contaminar la carne de consumo humano, pudiendo causar enfermedades en el hombre. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar las condiciones higiénico-sanitarias de 52 carnicerías localizadas en Asunción y detectar la frecuencia de STEC y *Salmonella* spp. en muestras de carne molida. Las condiciones higiénico-sanitarias se evaluaron mediante la estimación del riesgo, utilizando una escala de clasificación por categorías. La detección de STEC y *Salmonella* spp. se realizó por PCR en tiempo real. En la evaluación inicial, se clasificaron a 33% de las carnicerías como de alto y moderado riesgo. Se detectó STEC no-O157 en un 50% (130/258) de las muestras y *Salmonella* spp. en un 11% (29/258). Se realizaron acciones de mejora. En la etapa post-intervención, no se detectaron carnicerías de alto riesgo. En el muestreo de seguimiento se detectó un 29% (66/237) de muestras positivas para STEC no-O157 y 7% (16 /237) para *Salmonella* spp. Este estudio permitió realizar recomendaciones específicas y detalladas a cada carnicería, lo que tuvo un efecto significativo en la mejora de sus condiciones. Esta situación resalta la importancia de continuar fortaleciendo la vigilancia multisectorial y multidisciplinaria. Es imperativo que los establecimientos que se dedican al rubro, implementen las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) como una medida para reducir los riesgos asociados.

Palabras clave: Calidad higiénico-sanitario, Carnicerías, STEC, *Salmonella*.

Fecha de recepción: 15 de agosto de 2023. Fecha de aceptación: 08 de febrero de 2024.

*Autor correspondiente: **Melisa Florentin**. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, Laboratorio Central de Salud Pública. Asunción, Paraguay.

Email: meliflorent92@gmail.com



Este es un artículo publicado en acceso abierto bajo una [Licencia Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Good Manufacturing Practices of butcher shops and frequency of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. from ground meat from butcher shops in Asunción, Paraguay

ABSTRACT

The safety of marketed meat must be guaranteed in the production chain, to avoid foodborne illness. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and *Salmonella* spp. can be found in the gastrointestinal tract of cattle and contaminate meat for human consumption, potentially causing diseases in humans. This work aimed to evaluate the hygienic-sanitary conditions of 52 butcher shops located in Asunción and detect the frequency of STEC and *Salmonella* spp. in ground beef samples. Hygienic-sanitary conditions were evaluated by estimating risk, using a categorical classification scale. The detection of STEC and *Salmonella* spp. was performed by real-time PCR. In the initial evaluation, 33% of the butcher shops were classified as high and moderate risk. STEC non-O157 was detected in 50% (130/258) of the samples and *Salmonella* spp. in 11% (29/258). Improvement actions were carried out. In the post-intervention stage, no high-risk butcher shops were detected. In the follow-up sampling, 29% (66/237) of positive samples were detected for STEC non-O157 and 7% (16/237) for *Salmonella* spp. This study allowed specific and detailed recommendations to be made to each butcher shop, which had a significant effect on improving their conditions. This situation highlights the importance of continuing to strengthen multisectoral and multidisciplinary surveillance. It is imperative that establishments dedicated to the sector implement Good Manufacturing Practices (GMP) as a measure to reduce associated risks.

Keywords: Hygienic-sanitary quality, Butcher shops, STEC, *Salmonella*.

INTRODUCCIÓN

La inocuidad alimentaria es un tema crucial en la salud pública y en la calidad de vida de la población. A nivel mundial, se estima que cada año, aproximadamente 600 millones de personas son afectadas por la ingestión de alimentos contaminados y que 420.000 mueren por esta misma causa⁽¹⁾.

Paraguay es un país agro-ganadero y la industria cárnica representa una de sus actividades comerciales más importante, por lo cual, la vigilancia de la calidad higiénico-sanitaria de las carnicerías es una tarea prioritaria⁽²⁾.

Los rumiantes han sido identificados como reservorio de importantes patógenos humanos, pudiendo llegar al hombre a través de una gran variedad de alimentos que se encuentran sujetos a contaminación en cualquier etapa de su producción, procesamiento y almacenamiento⁽³⁻⁵⁾, por esa razón, la inocuidad de la carne comercializada debe estar garantizada a lo largo de la cadena de producción, de manera a evitar enfermedades transmitidas por alimentos (ETA)⁽⁶⁾.

El consumo de carne picada es un factor de riesgo de infección con varios patógenos transmitidos por los alimentos, entre los agentes bacterianos más comúnmente implicados en estos eventos se destacan: *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC), pudiendo causar un amplio espectro de enfermedades en el hombre^(7,8). Ambos patógenos pueden diseminarse en las plantas de faenado a través del cuero, heces y contenido intestinal, contaminando canales, equipos y utensilios (contaminación cruzada); esto ocurre usualmente durante las etapas de evisceración⁽⁹⁾.

En Paraguay, la carne molida es un producto de consumo masivo que comúnmente se tritura y se envasa en el momento de la venta. Este producto se comercializa en Asunción a través de 171 carnicerías habilitadas según la Dirección de Recaudaciones de la Municipalidad de Asunción en el 2020. La mayoría de estas carnicerías forman parte de supermercados como rubro secundario y son abastecidas de media reses, en su mayoría por frigoríficos paraguayos con

controles estrictos de Buenas Prácticas de Manufacturas (BPM)⁽¹⁰⁾. Las carnicerías de rubro principal sin embargo se abastecen de los Mercados Municipales.

El objetivo del presente estudio fue estimar el riesgo higiénico sanitario y determinar la calidad microbiológica de la carne molida cruda y superficies ambientales, como también de implementar acciones de mejora en carnicerías de la ciudad de Asunción, Paraguay.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio prospectivo descriptivo de corte transversal, muestreo por conveniencia, en el que se consideró como criterio de inclusión aquellas carnicerías que se encontraban en Asunción, que comercializaban carne molida de consumo minorista y que accedieron a participar del estudio. Fueron excluidas aquellas carnicerías que no se encontraban habilitadas por el Municipio.

Recolección de muestras

Entre junio a septiembre del año 2020 se evaluaron 52 carnicerías localizadas en cuatro zonas comerciales de Asunción: Santísima Trinidad, Recoleta, San Roque y La Encarnación, con el fin de cubrir las áreas geográficas más importantes de la ciudad (Figura 1). Las carnicerías seleccionadas contaban con habilitación municipal para la venta de productos de carne para el consumo minorista.

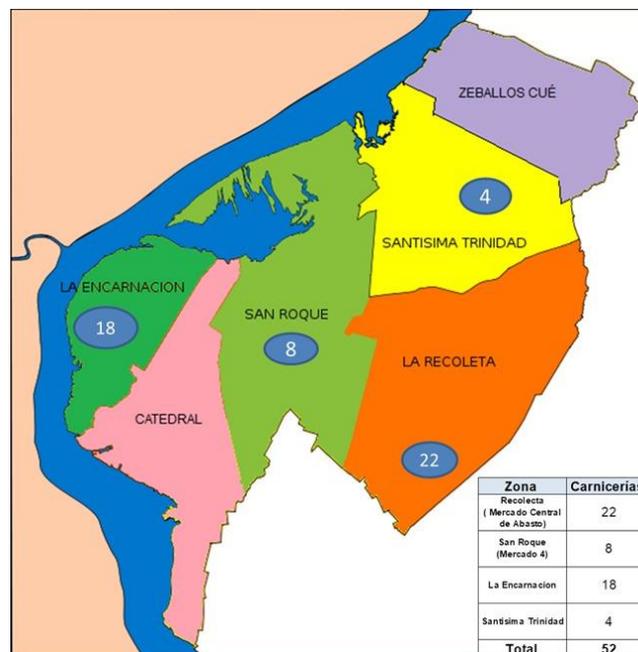


Figura 1: Distribución de carnicerías seleccionadas por zona. Asunción – Paraguay.

Evaluación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y de higiene.

Se evaluaron las buenas prácticas de manufactura (BPM) y de higiene en cada establecimiento mediante una lista de verificación (*check list*), que permitió analizar variables sobre la situación y las condiciones edilicias, el estado de los equipos y las herramientas, la disposición del personal en el área de producción, manipulación y venta, el almacenamiento de materias primas y productos a la venta, flujo de manipulación, venta y control de los productos. La puntuación adjudicada a cada variable se muestra en la Tabla 1. La calidad higiénico-sanitaria se evaluó de acuerdo con el resultado de dichas variables, mediante una escala de 1 a 100, considerando los puntajes más bajos, aquellos con menor puntuación en cuanto a las BPM y de higiene. La escala utilizada según Leotta y col. 2016, se define de la siguiente manera: riesgo alto a puntajes de 1 a 40, riesgo moderado de 41 a 70 y riesgo bajo valores de 71 a 100⁽¹¹⁾.

Durante la mencionada evaluación se recolectaron 52 muestras de carne molida proveídas por las carnicerías y además se obtuvieron muestras de 4 superficies;

manos del manipulador, molinillo, cuchillo y mesada utilizando esponjas estériles en agua peptonada tamponada (Britania-Lab, Buenos Aires, Argentina).

Análisis bacteriológico

El tamizaje molecular para la detección de STEC y *Salmonella* spp. se realizó por PCR en tiempo real (RT-PCR) de acuerdo con las siguientes metodologías: Norma USDA FSIS MLG 5C.00 para *E. coli* O157:H7 y la detección de otras STEC⁽¹²⁾ y Norma USDA FSIS MLG 4.10 para *Salmonella*⁽¹³⁾. Se utilizó la plataforma BioRad Deep Well (BioRad, California, USA) y los kits iQ-Check Vir y iQ-Check *Salmonella* (BioRad, California, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Caracterización de *Escherichia coli* O157:H7 y STEC no-O157

Las muestras positivas del tamizaje molecular fueron sembradas en Agar MacConkey sorbitol, Agar MacConkey Sorbitol Cefixima Telurito (Britania-Lab, Buenos Aires, Argentina) y Agar Chrom *E. coli* O157 (CHROM agar™ O157, París, Francia), luego se incubaron a 37°C por 18 a 24hs. De cada placa de Agar MacConkey sorbitol se seleccionó la zona de la confluencia además de cincuenta colonias con morfología sospechosa de *E. coli* que fueron grilladas y agrupadas en *pooles*. Las colonias sospechosas fueron confirmadas mediante pruebas bioquímicas. Posteriormente fueron analizadas para los genes *stx*₁, *stx*₂ y *rbf*_{O157} mediante PCR múltiple⁽¹⁴⁾. Los *pooles* positivos fueron resembrados, aislados y confirmados mediante PCR múltiple anteriormente descrita. Se utilizaron cepas control *E. coli* 25922 (control negativo) y *E. coli* EDL 933 (control positivo *stx*₁, *stx*₂ y *rbf*_{O157}).

Caracterización de *Salmonella* spp.

Para el aislamiento de *Salmonella*, las muestras positivas del tamizaje molecular por RT-PCR fueron procesadas según el procedimiento del Instituto Nacional de Alimentación y Nutrición (INAN) con código MI-PE-504-6-Método horizontal para detección de *Salmonella*; basado en la Norma⁽¹⁵⁾. Las colonias sospechosas fueron confirmadas mediante pruebas bioquímicas⁽⁹⁾.

La serovariedad se determinó por aglutinación en láminas y tubos utilizando antiseros somáticos y flagelares comerciales (*Statens Serum Institut*, Dinamarca) según el esquema de⁽¹⁵⁾.

Implementación de acciones de mejora para las carnicerías.

De acuerdo con los resultados preliminares de la evaluación se estableció un programa de capacitación grupal para inspectores, manipuladores y propietarios de cada carnicería, de modalidad presencial, donde los capacitados tuvieron oportunidad de aclarar sus dudas mediante consultas.

Verificación del impacto de las acciones de mejora

En octubre de 2020; se realizó la reevaluación de 48 carnicerías para verificar el impacto del programa (cuatro carnicerías cerraron por la pandemia de COVID-19). La evaluación de BPM, toma de muestras y análisis microbiológico fueron realizados como fue descrito previamente para la etapa de evaluación.

Análisis estadísticos

Para el análisis de resultados, fue creada una base de Datos en EPIinfo versión 7.2.3.1. El impacto de las acciones correctivas se evaluó mediante la prueba de McNemar, con la prueba *t* de Student pareada con una distribución de dos colas con un intervalo de confianza del 95% y una significancia de 0.05⁽¹⁷⁾.

Cuestiones éticas

Se respetó la privacidad de los datos de las carnicerías que aceptaron participar del estudio, y se solicitó permiso a los locatarios para la realización de la investigación por medio de consentimiento informado. Este trabajo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación del Laboratorio Central de Salud Pública.

RESULTADOS**Puntaje de cumplimiento de BPM y análisis bacteriológico en la etapa preliminar de evaluación.**

De acuerdo con los criterios evaluados de un total de 52 carnicerías que participaron de la primera etapa, se recogieron 52 muestras de carne molida y 206 muestras ambientales.

El 7,7% (n:4) fueron clasificadas como de riesgo alto, 25% (n:13) de riesgo moderado y 67,3% (n:35) de riesgo bajo (Tabla 1).

El tamizaje molecular detectó STEC en 57,7% (n:30) de la carne molida analizada y 48,5% (n:100) en las muestras ambientales. Sin embargo, *Salmonella* spp. fue detectada en un 15,4% (n:8) en carne molida y en un 10,2% (n:21) en muestras ambientales. Ambos microorganismos se detectaron de manera simultánea en un 9,6% (n:5) de las muestras de carne molida y un 7,3% (n:15) en muestras ambientales (Tabla 2).

Tabla 1: Puntaje de cumplimiento de BPM, según variables analizadas en las Etapas 1 y 2.

Grupo de variables y promedio de puntaje de las inconformidades de la BPM	Variables individuales ^a	1ra Etapa ^b \bar{x} : 52	Medidas Implementadas	2da Etapa ^b \bar{x} : 48	Valor de p ^c			
Situación y condiciones de la edificación	Ausencia de basura	3,2	Implementación de lavatorios en el área de manipulación, tanque de agua e infraestructura para el destino adecuado de los residuos.	3,8	<0,001			
	Pisos adecuados	8,2		9,8				
	Cielo rasos y techos	1,4		1,7				
	Paredes y divisorias	1,5		1,6				
	Puertas y ventanas	0,8		0,8				
	Protección contra insectos y roedores	2,4		3,4				
	Iluminación	1,8		1,0				
	Ventilación	1,8		1,9				
	Instalaciones sanitarias	4,8		5,1				
	Vestuarios	2,1		2,2				
	Lavatorios en el área de manipulación	5,2		12,0				
	Abastecimiento de agua potable	6,8		7,3				
	Tanque de agua	8,4		11,2				
Destino adecuado de los residuos	3,4	5,4						
Sector de lavado de equipos y herramientas	1,6	1,6						
Promedio de riesgo (10)^d		7,5		8,0				
Equipos y Herramientas	Mantenimiento de equipos	6,1	Adquisición de equipos de refrigeración adecuados e indicaciones respecto a la correcta distribución y mantenimiento de los mismos	7,1	<0,001			
	Utensilios	6,2		7,7				
	Mobiliarios	4,7		5,3				
	Equipos de refrigeración- congelación	10,0		13,8				
	Limpieza y desinfección	5,8		7,2				
	Colocación de herramientas y equipos en lugar apropiado	2,8		7,3				
Promedio de riesgo (15)^d		10,9		13,1				
Personal en el área de producción/Manipulación/Venta	Indumentaria	7,8	Instrucción acerca del correcto lavado de manos, de la indumentaria correcta y del monitoreo del estado de salud de los funcionarios	8,9	<0,001			
	Aseo personal	6,2		6,8				
	Hábitos personales	3,4		3,3				
	Estado de salud	8,1		9,8				
Promedio de riesgo (25)^d		20,2		20,6				
Materias primas (medias reses) y productos a la venta	Se controla la recepción de la materia prima	3,3	Instrucción sobre la correcta conservación de productos, a la temperatura adecuada y embalajes sellados	3,5	<0,001			
	Se controla los caracteres organolépticos y temperatura de la materia prima	6,2		7,3				
	Conservación adecuada de la materia prima	5,4		5,8				
	Se conservan las partes selladas, en las medias reses	3,6		6,0				
Promedio de riesgo (20)^d		15,2		17,2				
Flujo de producción, manipulación, venta y control	El flujo es lineal de un solo sentido	3,2	Capacitación sobre temas como contaminación cruzada, la importancia del flujo unidireccional y condiciones de almacenamiento adecuadas, el manejo de sobras y control de plagas.	3,7	<0,001			
	La manipulación de productos es mínima e higiénica	6,3		7,3				
	Los alimentos están protegidos	3,5		3,4				
	Las sustancias químicas	3,5		3,8				
	Almacenamiento	10,5		11,2				
	Las sobras	3,0		2,8				
	Características organolépticas (color, olor)	3,7		3,9				
	Orden y exhibición del producto	1,7		1,8				
	Manejo de plagas	3,1		3,2				
	El personal está calificado para realizar las tareas	2,5		3,3				
		2,4		2,6				
	Promedio de riesgo (30)^d			23,8			24,6	

a-La pregunta se incluye en la lista de Verificación de las BPM

b-Primera etapa (junio de 2020) - Segunda etapa (Octubre de 2020)

c-Mc Nesmar Test

d-Valor máximo asignado a cada grupo de variable

\bar{x} -Promedio de carnicerías evaluadas

Implementación de acciones de mejora para las carnicerías.

Este programa consistió en jornadas de capacitación realizada por inspectores capacitados que abordaron temas relacionados con la normativa nacional, los resultados de la evaluación y recomendaciones sobre instalaciones, BPM, procedimientos operativos estándar de saneamiento (SSOP), manipulación de alimentos crudos y conservación de la carne. Además, se realizaron recomendaciones para la mejora de cada carnicería en particular.

Verificación de las acciones de mejora en la etapa de reevaluación.

Para la segunda etapa fueron evaluadas 48 carnicerías, de las cuales se tomaron 48 muestras de carne molida y 189 muestras ambientales.

El 8,3% (n:4) se clasificaron como de riesgo moderado y 91,6% (n:44) de riesgo bajo. No se clasificaron carnicerías como de riesgo alto. Todos los grupos de variables mejoraron significativamente ($p < 0.001$) (Tabla 1).

El tamizaje molecular en la etapa de verificación detectó STEC en 39,6% (n:19) de la carne molida y 24,9% (n:47) de las muestras ambientales. Asimismo, *Salmonella* spp. en 10,4% (n:5) de la carne molida y 5,8% (n:11) de las muestras ambientales. En un 8,3% (n:4) de muestras de carne molida y un 5,3% (n:10) de muestras ambientales, se detectaron ambos microorganismos simultáneamente (Tabla 2).

Tabla 2: Tamizaje molecular de STEC y *Salmonella* por tipo de muestras según etapa.

Detección	Salmonella		Total	Valor de p	STEC		Total	Valor de p	Salmonella + STEC		Total	Valor de p
	1ra Toma	2da Toma			1ra Toma	2da Toma			1ra Toma	2da Toma		
A- Manos manipulador	2	1	3		20	12	32		2	1	3	
B- Molino picador	8	4	12		29	18	47		7	4	11	
C- Cuchillo	3	3	6	<0,001	26	5	31	<0,001	2	2	4	<0,001
D- Mesada	8	3	11		25	12	37		4	3	7	
E- Carne molida	8	5	13		30	19	49		5	4	9	
Total	29	16	45		130	66	196		20	14	34	

Caracterización de STEC y *Salmonella* spp.

Un total de 34,7% (68/196) de las cepas de STEC fueron recuperadas a partir del grillado de las muestras por el tamizaje molecular. Las cepas fueron caracterizadas como STEC *stx*₂ en un 54,4% (37/68), STEC *stx*₁ 8,8% (6/68), y STEC *stx*₁/*stx*₂ 36,8% (25/68). No se detectó la presencia de *E. coli* O157:H7.

El 60% (27/45) de cepas de *Salmonella* fueron recuperadas a partir de las muestras positivas por tamizaje molecular y fueron caracterizadas como *Salmonella entérica* subsp. *entérica* de las siguientes serovariedades: Anatum (N=7), Braenderup (N=4), Saintpaul (N=3), Oranienburg (N=2), Infantis (N=2), Schwarengrund (N=1), Agona (N=1), Give (N=1), Adelaide (N=1), Newpor (N=1), Abaetetuba (N=1), Cerro (N=1) y Livingstone (N=1). Una cepa no pudo ser serotipada.

DISCUSIÓN

En Asunción, la producción y comercialización de la carne molida se encuentra regulada por la Municipalidad mediante ordenanzas municipales. Si bien existe un esquema de control básico, no se disponen de instrumentos que permitan realizar el monitoreo adecuado para detectar los riesgos, establecer estrategias de mejora y evaluar el impacto de estas como un proceso de mejoría. Actualmente no existe una normativa nacional que regule los criterios microbiológicos para la elaboración de carne molida *in natura*, y en el caso particular de este Municipio el cumplimiento de las BPM se rige a través de la Ordenanza Municipal 101/17⁽¹⁰⁾.

Revelo que un 33% de las carnicerías fueron clasificadas como de Alto a Moderado Riesgo utilizando una simple lista de verificación. Estos resultados se asemejan a lo encontrado por Barril y colaboradores⁽¹⁸⁾ en la provincia de Neuquén, pero difieren a lo encontrado por Leotta y colaboradores en Berisso, donde el 50%

de las carnicerías fueron clasificadas como de alto riesgo⁽¹¹⁾. Se destaca además que en este trabajo el mismo equipo realizó la evaluación luego de la aplicación de acciones de mejora; donde se constató que la mayoría de las carnicerías calificaron como de riesgo bajo (91,6%), pudiéndose concluir que incluso una sola intervención puntual, fue efectiva. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por otros investigadores en estudios de carnicerías y frigoríficos^(5,11).

Asimismo, el estudio de frecuencia de patógenos realizado en la carne molida y superficies en contacto reflejó una mejora estadísticamente significativa, observándose una disminución global de agentes patógenos en la etapa de verificación, concordando con los resultados obtenidos por otros investigadores tanto en carnicerías como en frigoríficos (5,11,19,20). La detección de STEC en carne molida pasó de un 57,7% (30/52) a un 39,5% (19/48) y de un 48,5% (100/206) a un 24,9% (47/189) en muestras obtenidas de superficies de contacto luego de la implementación de las medidas de mejoras. Dichos resultados son similares a los obtenidos por Leotta y colaboradores en el 2016⁽¹¹⁾.

La frecuencia de STEC en carne molida como en muestras ambientales detectadas en este estudio, fue superior a lo encontrado en algunas localidades de Argentina^(4,18), pero inferior a lo reportado por otros autores en un estudio local en el año 2019 (21), donde detectaron la presencia de *stx*₁/*stx*₂ en el 100% de las muestras de carne analizadas, que al igual que en nuestro trabajo no reportan la detección de STEC O157:H7 a pesar del alto nivel de presunción de STEC.

Sin embargo, otros investigadores han detectado STEC O157:H7 incluso con niveles de presunción de STEC bajos^(11,20).

Con respecto a *Salmonella* spp., el nivel global de detección fue de un 9% (45/495), resultado similar al reportado en otros estudios en Argentina^(11,18), pero bastante inferiores a los reportados en otros países como Laos, Malasia, Filipinas y Vietnam⁽²²⁻²⁵⁾. Se observó, además, la reducción del nivel de detección en la etapa de verificación, pasando del 15% al 10% en muestras de carne molida, y del 10% al 6% en muestras de superficies de contacto. En el caso de materia prima, esta reducción no fue estadísticamente significativa, al igual que lo encontrado por Leotta *et al.* (2016)⁽¹¹⁾. Sin embargo, para muestras del medio ambiente sí se observó una mejoría significativa.

En este estudio se reporta además la detección simultánea de *Salmonella* spp. y STEC tanto en materia prima, como en superficies de contacto en ambas etapas del estudio. Estos resultados difieren de lo encontrado por otros autores^(4,18).

Aunque de manera general se pudo constatar una reducción de patógenos en la etapa post intervención ($p < 0,001$), algunas carnicerías clasificadas como de Riesgo Bajo presentaron aislamientos de *Salmonella* spp. y STEC. Esto coincide con lo reportado por otros autores^(4,18), quienes reportaron aislamientos de dichos patógenos en establecimientos con buenas condiciones higiénico-sanitarias. En nuestro caso, la persistencia de dichos microorganismos podría deberse a que una sola intervención sería insuficiente para fortalecer las debilidades en el cumplimiento de las BPM. Además, se debe tener en cuenta que la estimación del nivel de riesgo puede ser subjetiva teniendo en cuenta que la evaluación podría variar según el nivel de rigurosidad del evaluador. Si bien los inspectores fueron capacitados en la misma ocasión por el mismo equipo de expertos para la aplicación de la encuesta, es posible que los criterios de verificación no hayan sido aún lo suficientemente uniformes. Este aspecto se podría mejorar mediante la implementación de un programa que facilite la capacitación continua de inspectores y carniceros, además de un instrumento que permita la medición de las condiciones de las carnicerías habilitadas.

Otro aspecto importante a resaltar en este estudio fue el uso de plataformas moleculares como RT-PCR que permitieron mejorar la sensibilidad en la detección de ambos patógenos. En el caso de las STEC no-O157 existe una mayor dificultad para detectar y diferenciar a estos patógenos mediante el cultivo tradicional; y la recuperación de las colonias puras para su caracterización final sigue siendo un gran desafío debido a su gran diversidad^(14,26-28). Este procedimiento sumamente tedioso requiere de otras estrategias como ser el uso de métodos de inmunocentración que solo están disponibles para los serogrupos más

importantes. Es importante sin embargo mencionar, que la detección de los genes *stx* sólo permite la presunción de STEC, cuya presencia solo puede ser confirmada mediante el aislamiento y caracterización, debido a que existen otras bacterias que también pueden portar estos genes. No obstante, teniendo en cuenta la finalidad principal de este tipo de estudios, la detección de *stx* puede considerarse como un marcador de la existencia de reservorios⁽²⁹⁾.

En este estudio el aislamiento de las colonias se realizó mediante el grillado y búsqueda individual a través de las PCR en punto final lográndose una recuperación del 34,7%. Este porcentaje de recuperación es superior al 0-2,7% obtenido por otros investigadores (18,30), pero se asemeja a lo obtenido por Leotta *et al.* (2016) con un 20%⁽¹¹⁾.

Respecto a *Salmonella*, en este estudio se detectaron 13 serovariedades diferentes y las prevalentes fueron Anatum, Braenderup y Saintpaul, las cuales también fueron halladas en estudios similares^(11,24). Además, estas serovariedades ya se han reportado en nuestro país en los últimos años. Un trabajo local reciente describió la diversidad de serovariedades de *Salmonella* procedentes tanto en aislamientos clínicos como de alimentos de origen animal; y aunque predominan *S. Typhimurium* y *S. Heidelberg*, los serotipos recuperados estuvieron presentes en ambos grupos⁽³¹⁾. Además, estudios anteriores realizados en Paraguay en los años 2010 y 2011 reportaron en pollos de traspatio las serovariedades: Enteritidis, Schwarzengrund y Saintpaul y en cerdos *Typhimurium*, Schwarzengrund, Derby, Anatum, Cerro, Stanley y Saintpaul respectivamente⁽³²⁾, quedando así en evidenciada la circulación de las mismas serovariedades en diferentes fuentes animales de consumo humano y su permanencia en el tiempo.

Este trabajo aportó asimismo conocimientos sobre la calidad microbiológica de la carne molida fresca para la venta en las carnicerías en la fase minorista. La existencia de un porcentaje elevado de STEC productor de toxina Shiga y *Salmonella* spp. en carne molida fresca para la venta, así como en las superficies en contacto con la carne pone en evidencia las deficiencias en cuanto al buen manejo higiénico-sanitario en dichos establecimientos.

Se demostró por lo tanto la utilidad de la implementación de un método de control de las BPM basado en una simple lista de verificación para estimar la calidad higiénico sanitario de los productos.

Los resultados de este trabajo de investigación; permitirán orientar las acciones de la Municipalidad de Asunción y generar lineamientos de mejora en las prácticas de producción y manipulación de la carne molida, en el marco de la prevención y control de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA).

Agradecimientos

Un agradecimiento especial a todos los propietarios y trabajadores de las carnicerías por su colaboración y por el compromiso en realizar las mejoras. A todos los inspectores de la Municipalidad de Asunción por participar activamente en las actividades de capacitación y aplicación de las encuestas. Al Asesor Internacional por el acompañamiento, capacitación y supervisión durante la ejecución del proyecto.

Contribución a los autores

Natalie Weiler: Concepción/diseño de trabajo.

María Orrego: Caracterización genotípica de las cepas, Preparación del Manuscrito. Revisión Bibliográfica.

Mercedes Álvarez: Siembra y Caracterización fenotípica de las cepas.

Flavia Ortiz: Caracterización fenotípica y genotípica de las cepas.

Jazmín Martínez: Caracterización genotípica de las cepas.

Felicita Duré: Análisis estadísticos.

Melisa Florentín: Preparación del manuscrito. Revisión Bibliográfica.

Laura Piris: Procesamiento de muestras.

José Pérez: Procesamiento de muestras

Myrna Domínguez: Realización de las encuestas, toma de muestras y capacitación de carniceros y propietarios.

Carla Lacarruba: Realización de las encuestas, toma de muestras y capacitación de carniceros y propietarios.

Leotta Gerardo: Asesoría y Revisión de la versión final.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un potencial conflicto de interés.

Financiación

Este proyecto de Investigación fue adjudicado en el marco del "Componente I: Fomento a la Investigación Científica" del Programa Paraguayo para el Desarrollo de la Ciencia y Tecnología – PROCENCIA – Convocatoria 2015, Conacyt Nro. Proyecto: PINV15-620, el cual es financiado con recursos del Fondo para la Excelencia de la Educación y la Investigación del FONACIDE.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Naciones Unidas. Los alimentos contaminados cuestan 420.000 vidas y 95.000 millones de dólares en pérdidas al año. Noticias ONU [Internet]. [acceso 19 de junio de 2023]. 2023. <https://news.un.org/es/story/2022/06/1509842>
- Laino LD, Laino I, Musálem K, Laino LD, Laino I, Musálem K. Comercio Internacional y Competitividad de la Producción Ganadera en Paraguay. Poblac Desarro [Internet]. 2018 [acceso 12 de julio de 2023]; 24 (46): 99–109. http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S2076-054X2018004600099&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Brusa V, Costa M, Londero A, Leotta G, Galli L. Characterization and Molecular Subtyping of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains in Butcher Shops. Foodborne pathogens and disease 2017; 14(5):253–259. <https://doi.org/10.1089/fpd.2016.2238>
- Ruiz MJ, Padola N, Leotta G, Colello R, Passucci J, Rodríguez E, et al. Calidad microbiológica de la carne picada y detección de patógenos en muestras ambientales de carnicerías de la ciudad de Tandil, provincia de Buenos Aires, Argentina. Revista Argentina de microbiología 2022; 54(3): 215–219. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2021.04.003>
- Costa M, Pracca G, Sucari A, Galli L, Ibargoyen J, Gentiluomo J, et al. Comprehensive evaluation and implementation of improvement actions in bovine abattoirs to reduce pathogens exposure. Prev Vet Med. 2020; 176. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.104933>.
- González T, Rojas R. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico [Internet]. 2005 [acceso 12 de julio de 2023]; 47(5): 388–390. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342005000500010
- Torso L, Voorhees R, Forest S, Gordon A, Silvestri S, Kissler B, et al. *Escherichia coli* O157:H7 Outbreak Associated with Restaurant Beef Grinding. Journal of food protection 2015; 78(7): 1272–1279. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-545>
- Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson MA, Roy SL, et al. Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. Emerg Infect Dis [Internet]. 2011 [acceso 12 de julio de 2023]; 17(1): 7–15. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3375761/>
- Martínez-Chávez L, Cabrera-Díaz E, Pérez-Montaño JA, Garay-Martínez LE, Varela-Hernández JJ, Castillo A, et al. Quantitative distribution of *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* on beef carcasses and raw beef at retail establishments. International Journal of Food Microbiology. 2015; 210:149–155. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.06.016>
- Municipalidad de Asunción. Observaciones para el transporte y comercialización de carne y menudencias para consumo humano.

- [Internet]. [acceso 12 de julio de 2023]. 2002.
<https://www.asuncion.gov.py/wp-content/uploads/2016/04/ORD-2002-27.pdf>
11. Leotta GA, Brusa V, Galli L, Adriani C, Linares L, Etcheverría A, et al. Comprehensive Evaluation and Implementation of Improvement Actions in Butcher Shops. *PLoS One*. 2016;11(9): e0162635.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162635>
 12. Laboratory Guidebook Notice of Change. Primer and Probe Sequences and Reagent Concentrations for non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) Real-Time PCR Assay. Laboratory Guidebook-USDA. 2019 [Internet] [acceso 20 de enero de 2024].
https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2021-03/mlg-5-appendix-4.pdf
 13. United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service Isolation and Identification of *Salmonella* from Meat, Poultry, Pasteurized Egg, and Siluriformes (Fish) Products and Carcass and Environmental Sponges. Laboratory Guidebook-USDA. 2019 [Internet] [acceso 20 de enero de 2024].
https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/documents/MLG-4.13.pdf
 14. Leotta GA, Chinen I, Epszteyn S, Miliwebsky E, Melamed IC, Motter M, et al. Validación de una técnica de PCR múltiple para la detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. 2005 [acceso 12 de julio de 2023]; 37(1): 1–10. ISSN 0325-7541
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0325-75412005000100001&lng=es&nrm=iso&tlng=en
 15. Grimont P. Antigenic Formulae of the *Salmonella* serovars, (9th ed.) Paris: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. 2019 [acceso 22 de enero de 2024].
https://www.academia.edu/20495783/Antigenic_Formulae_of_the_Salmonella_serovars_9th_ed_Paris_WHO_Collaborating_Centre_for_Reference_and_Research_on_Salmonella
 16. Sánchez Turcios RA. t-Student: Usos y abusos. *Rev Mex Cardiol* [Internet]. 2015 [acceso 23 de enero 2024]; 26(1): 59–61. ISSN: 0188-2198
http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0188-21982015000100009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 17. Barril PA, Soto SA, Jaureguiberry MV, Gottardi G, Bascur I, Leotta GA, et al. Microbiological risk characterization in butcher shops from the province of Neuquen, Patagonia Argentina. *LWT* [Internet]. 2019 [acceso 12 de julio de 2023];107: 35–40. DOI:10.1016/j.lwt.2019.02.074
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643819301707>
 18. Casas D, Brashears MM, Miller MF, Inestroza B, Bueso-Ponce M, Huerta-Leidenz N, et al. In-Plant Validation Study of Harvest Process Controls in Two Beef Processing Plants in Honduras. *J Food Prot*. 2019;82(4):677–83.
<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-395>
 19. Brusa V, Restovich V, Galli L, Arias R, Linares L, Costa M, et al. Reduction of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a beef abattoir. *Food Sci Technol Int* [Internet]. 2022 [acceso 12 de julio de 2023]; 28(1): 50–9.
<https://doi.org/10.1177/1082013221991258>
 20. Rojas N, Martínez A, Acuña P, Rodríguez F, Padola N, Guillen R. Detection of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* in Ground Beef: Evaluation of Contamination Levels in Butcheries of The Metropolitan Zone in Asuncion, Paraguay [Internet]. *Journal of Pure and Applied Microbiology*. 2019 [acceso 12 de julio de 2023].
[doi:10.22207/JPAM.13.1.08](https://doi.org/10.22207/JPAM.13.1.08)
 21. Abu Bakar S, Radu S, Mahyudin NA, Rukayadi Y, Tuan Chilek TZ. Prevalence of *Salmonella* spp. in chicken and beef from retail outlets in Malaysia. *Int Food Res J* [Internet]. 2017 [acceso 12 de julio de 2023]; 24(1): 437–49.
[http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20\(01\)%202017/\(58\).pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/24%20(01)%202017/(58).pdf)
 22. Boonmar S, Morita Y, Pulsrikarn C, Chaichana P, Pornruagwong S, Chaunchom S, et al. *Salmonella* prevalence in meat at retail markets in Pakse, Champasak Province, Laos, and antimicrobial susceptibility of isolates. *J Glob Antimicrob Resist*. 2013;1(3):157–61.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2013.05.001>
 23. Santos PDM, Widmer KW, Rivera WL. PCR-based detection and serovar identification of *Salmonella* in retail meat collected from wet markets in

- Metro Manila, Philippines. PLOS ONE [Internet]. 2020 [acceso 12 de julio de 2023]; 15(9): e0239457. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0239457>
24. Phan TT, Khai LTL, Ogasawara N, Tam NT, Okatani AT, Akiba M, et al. Contamination of *Salmonella* in retail meats and shrimps in the Mekong Delta, Vietnam. J Food Prot. 2005;68(5): 1077-80. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.5.1077>
 25. Jure MA, Condorí S, Leotta GA, Chinen I, Miliwebsky E, Allori C, et al. Detección, aislamiento y caracterización de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga a partir de carne molida fresca proveniente de carnicerías de Concepción, provincia de Tucumán. Rev Argent Microbiol [Internet]. 2010 [acceso 26 de julio de 2023]; 42(4): 284-7. ISSN: 0325-7541 http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0325-75412010000400009&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 26. United States Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science. Detection, isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 and O157:NM (nonmotile) from meat products. USA, 2002, p.1-13. Laboratory Guidebook-USDA. 2019 [Internet] [acceso 20 de enero de 2024]. <https://www.fsis.usda.gov>
 27. United States Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science. Detection, isolation and identification of *Escherichia coli* O157:H7 from meat products. MLG 5.04. USA, 2008. Laboratory Guidebook-USDA. 2019 [Internet] [acceso 20 de enero de 2024]. <https://www.fsis.usda.gov>
 28. Brusa V, Aliverti V, Aliverti F, Ortega EE, de la Torre JH, Linares LH, et al. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef retail markets from Argentina. Front Cell Infect Microbiol. 2012; 2: 171. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00171>
 29. Li MC, Wang F, Li F. Identification and molecular characterization of antimicrobial-resistant shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from retail meat products. Foodborne Pathog Dis. 2011;8(4):489-93. <https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0688>
 30. Ortiz F, Weiler N, Alvarez M, Orrego MV, Kawabata A, Riera E, et al. Resistencia a múltiples antibióticos en serovariedades de *Salmonella* aisladas de muestras clínicas y alimentos. Mem Inst Investig En Cienc Salud [Internet]. 2021 [acceso 12 de julio de 2023]; 19(1): 37-47. ISSN 1812-9528. http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1812-95282021000100037&lng=en&nrm=iso&tlng=es
 31. Alvarez F, Alvarez FL, Copes J, Alvarez M, Nuñez L, Suzuki K. Frecuencia de *Salmonella* enterica en aves de traspatio de la localidad de San Lorenzo, Departamento Central, República del Paraguay. Compend Cienc Vet 2012 02(01): 9-11. ISSN 0365-5148 <http://www.vet.una.py/dict/pdf/ccv02/alvarez.pdf>
 32. Cardozo L, Álvarez M, Suzuki K, Giménez G, Weiler N, Leotta GA, et al. Estudio preliminar sobre el aislamiento y la identificación de *Salmonella* enterica en cerdos de la República del Paraguay. Analecta Vet [Internet]. 2010 [acceso 31 de julio de 2023];30, no1, número especial. ISSN: 0365-5148 <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/96832>