

DETECCIÓN, CARACTERIZACIÓN SEROLÓGICA Y ANTIBIOGRAMAS DE *Escherichia coli* AISLADAS DE CARNE DE TERNERA (BABILLA) ENTERA Y PICADA

Carmela Maria Kasnowski, Robson Maia Franco, Luiz Antonio Trindade Oliveira, Angélica M. Valente, José Carlos A.P. Carvalho y Carlos A. Conte-Junior*
Departamento de Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Federal Fluminense (Brasil)

*Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid (Madrid, España).
E-mail: conte@vet.ucm.es



Introducción

La carne bovina, utilizada a menudo en la alimentación humana (1), es una excelente fuente de proteínas, sales minerales y vitaminas del grupo B. Sin embargo, los alimentos cárnicos, particularmente aquellos que son procesados manualmente, constituyen un excelente medio de cultivo ya que presentan un elevado porcentaje de humedad, pH próximo a la neutralidad y composición rica en nutrientes que favorecen el establecimiento, supervivencia y multiplicación de un gran número de microorganismos capaces de provocar Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) en humanos (2). Las condiciones sanitarias deficientes durante la matanza de los animales, un almacenamiento inadecuado y una higiene precaria durante la preparación de los productos cárnicos, son factores que predisponen a los individuos a sufrir las ETA o a que se conviertan en portadores asintomáticos (3,4). De las muestras de carne de ternera que son enviadas al laboratorio del Centro de Vigilancia Sanitaria, una importante parte de las bacterias aisladas son Gramnegativas, y de éstas, el 95% pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, donde *Escherichia coli* representa una de las especies más comúnmente identificadas (5). En el caso de humanos, estas bacterias pueden desencadenar procesos entéricos, así como una gran variedad de infecciones extra intestinales. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que en el mundo suceden aproximadamente un billón de episodios diarreicos por año, particularmente, en niños menores de cinco años, teniendo como consecuencia una elevada mortalidad (6).

Escherichia coli es la especie predominante entre los diversos microorganismos anaerobios facultativos que hacen parte de la microbiota intestinal de animales de sangre caliente (7). El significado de su presencia en los alimentos debe ser evaluado sobre dos vertientes, una como indicativo de contaminación microbiana de origen fecal, que representa condiciones higiénicas insatisfactorias, y otra como indicativo de diversas cepas reconocidas como patógenas para humanos y animales. El análisis cuantitativo de *E. coli* es un parámetro empleado para estimar el peligro potencial de una ETA a través del agua y de los alimentos destinados al consumo humano (8,9). Basándonos en factores de virulencia, manifestaciones clínicas, epidemiología y serotipificación, las cepas de *E. coli*, consideradas patógenas, son agrupadas según Buchanan y Doyle (10) en 5 clases: *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) y *E. coli* enteroagregativa (EAEC o EaggEC).

Por lo tanto, el objetivo de nuestro estudio fue detectar, caracterizar los serogrupos y realizar los antibiogramas de *Escherichia coli* aisladas de carne de ternera (babilla), entera y picada, en diferentes establecimientos en las mismas condiciones que se ofrecen al consumidor.

Material y Métodos

Se recogieron 30 muestras de carne bovina, la babilla, en establecimientos comerciales (supermercados y carnicerías) de la ciudad de Río de Janeiro (Brasil) en las mismas condiciones que se ofrecen al consumidor. Se emplearon muestras de 1,0 Kg de peso, en las cuales, 500 gramos se utilizaron enteros y los otros 500 gramos se picaron, por el propio establecimiento. Las muestras se transportaron en recipientes isotérmicos al laboratorio de Control Microbiológico de Productos de Origen Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Federal Fluminense.

Con el objetivo de observar el comportamiento de los microorganismos y comprobar la eficiencia de todos los medios de cultivos utilizados en las diferentes fases de análisis, se sembraron cultivos patrones de: *E.coli*/JFF/NCIB-86, *E. coli* ATCC 10799, *E. coli* ATCC 11303, *E. coli* CDC H27, *E. coli* CDC 055, *E. coli* O157:H7 E-40705-SH1-PHLS, suministrados por el Instituto Oswaldo Cruz (Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil).

2.1 Conteo de *Escherichia coli* – Método 1 (11)

Se pesaron asépticamente 25 g de cada muestra y se procedió a la homogeneización con 225 mL de solución salina peptonada a 0,1% en homogeneizador, obteniéndose la dilución 10-1. Se retiró una alícuota de 1 mL de esta dilución y se transfirió a un tubo conteniendo 9 mL de solución salina peptonada (SSP) a 0,1%, originando la dilución 10-2. Para las muestras de carne entera se sembró hasta la dilución 10-7, mientras que para carne picada hasta 10-9. Tres series de tres tubos conteniendo 10 mL de medio Fluorocult LMX Broth Modified (Merck, Darmstadt, Alemania), se inocularon e incubaron a 37°C durante 24-48 horas. Se procedió a la lectura de la prueba con la ayuda de una lámpara de luz ultravioleta de una longitud de onda de 366 nm (Merck, Darmstadt, Alemania), de acuerdo con la siguiente interpretación: cuando aparece fluorescencia de color verdeazulado, lo que se determina es la presencia de coliformes a 35°C (coliformes totales), mientras que si la fluorescencia es azul, indica presencia de coliformes fecales. Para confirmar la presencia de *E. coli* se realizó también la prueba del indol, empleando el reactivo de Kovacs (Merck, Darmstadt, Alemania) cuya confirmación se verifica con la aparición de un anillo rojo. Los resultados se expresaron como número más probable (NMP) de coliformes a 35°C y de *E. coli* por gramo de muestra, de acuerdo con la tabla de Mc Crady.

2.2 Aislamiento e identificación de *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) y *E. coli* enteroinvasiva

(EIEC) - Método 2 (12)

Se emplearon 25 gramos de cada muestra que, después de mezclados en el homogeneizador, se les añadió 225 mL de caldo cerebro corazón (BHI) (Merck, Darmstadt, Alemania) y se incubaron a 35°C durante tres horas. Este caldo proporciona la recuperación de las condiciones fisiológicas del microorganismo y estimula la producción enzimática, aumentando el potencial inmunogénico y patológico. Después del periodo de incubación, se transfirió todo el inóculo a 250 mL de caldo Triptona Fosfato y se incubó a 44°C durante 20h. Se continuó con la fase de siembra en estrías, realizándose con el apoyo de una asa bacteriológica de platino en los medios de agar Mac Conkey Lactose (Difco, Detroit, EE.UU.), agar Eosine methylene blue (EMB) (Merck, Darmstadt, Alemania) y agar *Salmonella-Shigella* (Oxoid, Hampshire, Inglaterra), y se incubó a 35°C durante 24 horas. Se aislaron tres colonias típicas de cada uno de los medios y se inocularon para su identificación en tubos con medio de Sulfato Indol Motilidad (SIM) y agar Citrato de Simmons (Merck, Darmstadt, Alemania), se incubaron a 35°C durante 24 horas. Se consideraron sospechosos aquellos cultivos que fueron H₂S negativo (-), indol positivo (+), motilidad positiva o negativa (+/-) y citrato negativo (-). Éstos a su vez se inocularon en medio de Motilidad Indol Lisina (Mili) (13) y medio EPM (14) y se incubaron a 35°C durante 24 horas. Después de la interpretación de las pruebas se le realizó la serología.

2.3 Aislamiento, identificación de *Escherichia coli* O157:H7 y diferenciación de cepas enteropatógena (EHEC) - Método 3 (15).

Se emplearon 25 gramos de cada muestra, acondicionadas en bolsas plásticas de homogeneización, en las que se adicionó 225 mL de caldo Lauril Sulfato Triptosa (Merck, Darmstadt, Alemania), y se homogeneizaron e incubaron a 37°C durante 24 horas. Se sembraron en placas de agar Fluorocult *E. coli* O157:H7 (Merck, Darmstadt, Alemania) y agar Mac Conkey Sorbitol (Oxoid, Hampshire, Inglaterra), y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Se tomaron tres Unidades Formadoras de Colonias (UFC) típicas de cada placa inoculada para identificación en medio Sulfato Indol Motilidad y agar Citrato de Simmons, y posteriormente, se sembraron en medio Motilidad Indol Lisina (Mili) y medio EPM, de acuerdo al procedimiento descrito para las EPEC. De los inóculos sospechosos, se realizó la serología.

2.4 Serología

Para realizar la serología, los cultivos positivos para *E. coli*, que provenían del medio EPM, se inocularon en agar Casoy (Oxoid, Hampshire, Inglaterra) inclinado y se incubaron a 35°C durante 24 horas. Se utilizaron sueros polivalentes y monovalentes (16) para la identificación de los serogrupos de *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). De cada uno de los cultivos en agar

Casoy, se obtuvo una suspensión de cultivo bacteriano, a la que se le adicionaron 0,3 mL de solución salina esterilizada y se les realizó la prueba serológica de aglutinación en placa.

2.5 Antibiograma de las cepas aisladas y tipificadas

Después del aislamiento e identificación, los cultivos de *E. coli* se testaron para determinar su sensibilidad frente a diferentes antibióticos, de acuerdo al método recomendado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (17), basado a su vez en el método descrito por Bauer y colaboradores (18). Para evaluar la sensibilidad de las cepas a los principales antibióticos, se utilizaron los polidiscos de Polisensidisc DME (D.M.E., Araçatuba, Brasil), los cuales consisten en un sistema compuesto de cuatro módulos que contienen seis antibióticos cada uno. Se prepararon placas de Petri con 20 a 25 mL del medio patrón de agar Mueller-Hinton (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), a pH 7,2. La suspensión bacteriana utilizada fue la misma que la empleada para serología, no obstante, ésta se ajustó con solución salina esterilizada para obtener y comparar con el patrón de turbidez de Kirby y Bauer, correspondiente al número 1 de la escala de Mc Farland, que representa un total de 3×10^8 UFC mL⁻¹. Se preparó la turbidez patrón adicionándose 0,1 mL de cloruro de bario en 9,9 mL de ácido sulfúrico a 1%. Esta escala nefelométrica constituye el patrón de turbidez para determinar la intensidad de la multiplicación bacteriana en medios de cultivo líquido, cuanto mayor es el número de bacterias, mayor la opacidad de la solución salina. Con el uso de una torunda estéril se inoculó el cultivo líquido en toda la superficie del medio, como mínimo en tres sentidos, girando la placa después de cada siembra. A continuación, se aplicaron los discos de sensibilidad con la ayuda de una pinza, previamente flameada y enfriada. Se utilizaron para *Escherichia coli* polidiscos correspondientes a los módulos III y IV, por ser los indicados para la realización de los antibiogramas en caso de microorganismos Gram-negativos. El módulo tres está constituido por los antibióticos Cloranfenicol, Aztreonam, Sulfazotrim, Cefadizima, Cefotaxima y Amicacina. Por otro lado, el módulo IV está compuesto por Netilmicina, Ampicilina, Cefalotina, Cefoxitina, Gentamicina y Tetraciclina. Se incubaron las placas inoculadas a 37°C durante 18-24 horas, y después de este período, se observaron los halos de inhibición que se midieron con la ayuda de un halómetro (expresado en milímetros). La interpretación de la prueba se basó en la tabla que determina los patrones de medidas de los halos de inhibición para cada antibiótico, según la clasificación de: resistente, intermediario, moderadamente sensible y sensible.

2.6 Análisis estadístico

Se realizó el tratamiento estadístico de los estudios microbiológicos utilizando el programa de análisis de varianza (ANOVA) en delineamiento enteramente casualizado (DEC) y en factorial, seguidas de la Prueba de Tukey Kramer con un nivel de 95% de confianza.

Resultados y Discusión

De las treinta muestras analizadas, el 100% resultaron contaminadas con coliformes totales y en cinco (16,7%) no se detectaron coliformes fecales. En carne entera, los recuentos de coliformes totales oscilaron de $4,0 \times 10^3$ a $1,1 \times 10^6$ y en *E. coli* de 0 a $2,4 \times 10^3$, mientras que en carne picada oscilaron de $4,4 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^7$ y de 0 a $3,0 \times 10^5$, respectivamente. La carne de ternera picada presentó, estadísticamente ($p < 0,05$), mayor índice de contaminación por coliformes que la carne de ternera entera, probablemente debido a una contaminación durante el procesamiento. Los resultados obtenidos son similares a los encontrados por Leite y colaboradores (19), en los que el 100% de las muestras de alimentos cárnicos crudos examinados presentaron coliformes totales con conteos significativos y un 56% presentaron un recuento superior a $5,0 \times 10^2$ g⁻¹ de *E. coli* (NMP).

Costa y colaboradores (20) también encontraron que el 100% de las 30 muestras de carne bovina picada estudiadas resultaron contaminadas por coliformes totales, 90% con coliformes fecales y 40% positivas para *E. coli*. El elevado número de trabajos con resultados positivos abordando los coliformes y en especial la *E. coli* en carne de ternera, ocurre probablemente porque los bovinos son considerados reservorio natural (especialmente de la EHEC) y el consumo de alimentos contaminados directa o indirectamente por heces bovinas, representa la principal fuente de contaminación de dicho microorganismo (21,22). Los resultados obtenidos confirman la presencia de estas cepas en la canal, lo que confirma la posible contaminación en el abate o durante el procesamiento inadecuado, cuando las bacterias intestinales pueden entrar en contacto con la canal (23,24).

El método 2 presentó mayor eficacia en el aislamiento de *Escherichia coli* enteropatógena, aislando un total de 223 colonias, las cuales se confirmaron bioquímicamente, 110 (49,33%) presentes en la carne entera y 113 (50,67%) en la picada (ver Tabla 1). De las 223 colonias aisladas, 61 (27,36%) fueron serotipificadas, obteniéndose nuevamente mayor cantidad de cepas aisladas (34 colonias - 15,25%) en carne picada que en la carne entera (27 colonias - 12,11%). Se observó también que por serología, fueron más frecuentes las cepas

del grupo EPEC (52 colonias – 23,32), seguidas por las EIEC (ocho colonias – 3,59%) y una sola cepa de EHEC. Se identificaron, por la tercera metodología, 28 colonias de *Escherichia coli* confirmadas por pruebas bioquímicas. La carne picada presentó mayor número de colonias confirmadas (16 colonias - 57,14%) que las muestras de carne entera (12 colonias - 42,86%). A continuación, por serología, sólo dos cepas se identificaron como patogénicas, pertenecientes al grupo EIEC, una cepa proveniente de la carne picada y la otra de la carne entera.

Tabla 1. Numero de colonias de *Escherichia coli* aisladas e identificadas de muestras de carne de ternera (babilla) entera y picada utilizando el método 2.

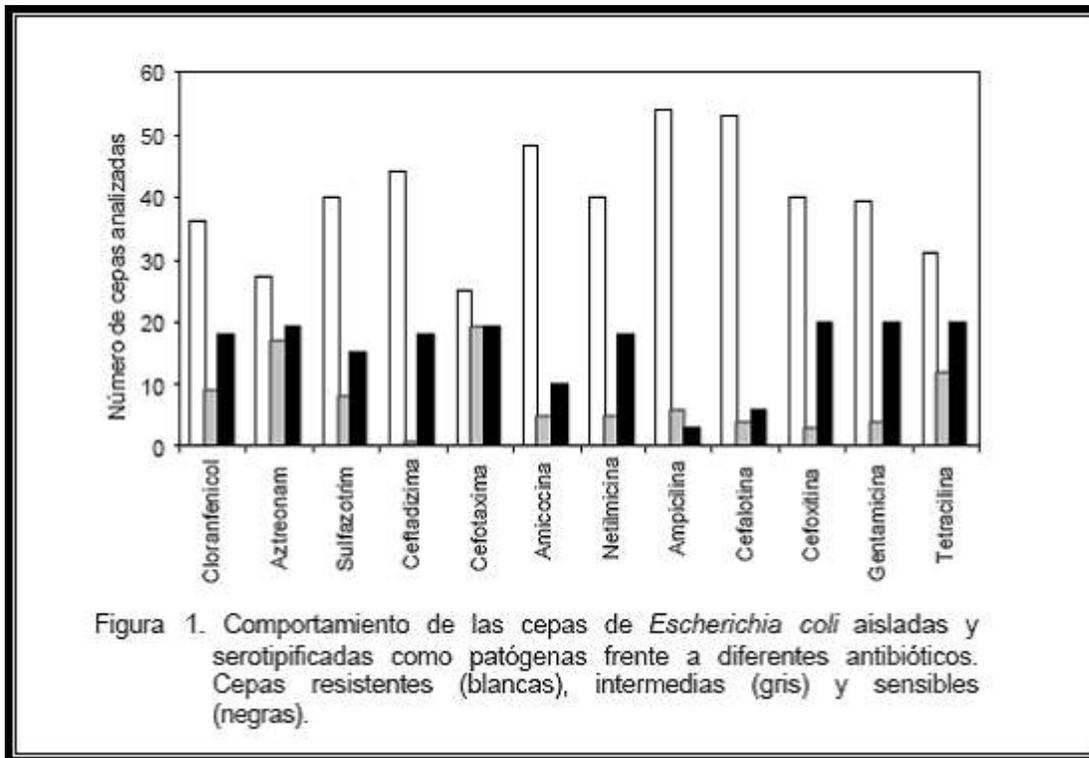
| Tipo de muestra | Numero Total de colonias confirmadas | Numero de UFC de <i>E. coli</i> por variantes | | | |
|-----------------|--------------------------------------|---|--------------|--------------|----------------|
| | | EPEC | EHEC | EIEC | Total |
| Carne Entera | 110 (49,33%) | 23 (10,31%) | 1 (0,45%) | 3 (1,35%) | 27 (12,11%) |
| Carne Picada | 113 (50,67%) | 29 (13,01%) | 0 (0%) | 5 (2,24%) | 34 (15,25%) |
| Total | 223 | 52 (23,32%) | 1 (0,45%) | 8 (3,59%) | 61 (27,36%) |

Con relación a la metodología empleada, el método 2 de cultivo demostró ser más eficiente que el 3, ya que presentó un mayor número de colonias confirmadas, que se ratificaron mediante análisis estadístico con respecto a las cepas EPEC. Los medios con mayores porcentajes de recuperación fueron EMB y SS (38,09%), seguidos por Mac Conkey lactosa (20,63%). Con la misma metodología, Cerqueira y colaboradores (25) y Franco (26) también obtuvieron resultados similares a los antes descritos. La mayor frecuencia de aislamientos fue para las cepas EPEC (52 cepas) mientras que los serogrupos más identificados fueron EPEC B O142 (27 cepas), EPEC B O125 (nueve cepas) y EPEC A O111 (cinco cepas). Además de éstos, también se identificaron en menor cantidad, EPEC A O55 (tres cepas), EPEC C O86 (tres cepas), EPEC C O128 (dos cepas), EPEC A O119 (una cepa), EPEC B O158 (una cepa) y EPEC B O114 (una cepa). De los serogrupos encontrados, es preocupante la presencia de EPEC, ya que son importantes microorganismos causantes de gastroenteritis en niños, ancianos e inmunocomprometidos (27,28).

También conviene destacar que en el presente trabajo se aisló una cepa de *Escherichia coli* O157:H7. En los últimos años la *E. coli* O157:H7 ha sido reconocida como uno de los microorganismos involucrados en los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos en humanos (29,30). En 1982 ocurrió un brote de *E. coli* O157:H7 por el consumo de hamburguesas mal cocidas en una gran red de comida rápida en los Estados Unidos, que afectó a 600 personas y originó la muerte de cuatro niños (31). Su importancia en salud publica se debe a que puede provocar colitis hemorrágica y evolucionar hacia un síndrome urémico hemolítico y a una púrpura trombótica trombocitopénica (32,33,34).

Las cepas de *E. coli* aisladas y tipificadas como patógenas presentaron un gran espectro de resistencia a los antibióticos probados, principalmente a Ampicilina (11,32%), Cefalotina (11,11%) y Amicacina (10,06%). La figura 1 muestra los resultados de los antibiogramas, donde se observa también una mayor sensibilidad a Cefoxitina, Gentamicina y Tetraciclina (10,75%). La realización de la prueba de sensibilidad a antibióticos, en el caso de *E. coli*, se hace necesaria debido a los resultados de los distintos estudios en los que las cepas aisladas presentaron resistencia a la mayoría de los antibióticos comúnmente utilizados. En el trabajodesarrollado por Petri y colaboradores (35), en muestras de carne picada, la Ampicilina fue igualmente el antibiótico con mayor número de cepas resistentes, siendo la Tetraciclina el segundo antibiótico con mayor frecuencia de resistencia. En el caso de la Cefalotina, detectaron sólo cepas sensibles, por lo que difieren de los resultados obtenidos en nuestro estudio (ver Figura 1). Meng y colaboradores (36) también destacaron la importancia de la variabilidad

en la resistencia a antibióticos de cepas de *E. coli*, mostrando una mayor frecuencia con respecto a la Streptomycin y Tetracycline. Los resultados observados por Oliveira y colaboradores (37) son parecidos a los obtenidos en nuestro estudio, ya que verifican que los cultivos de *E. coli*, aislados de hamburguesas, fueron sensibles a Gentamicin.



Schroeder y colaboradores (38), al aislar 361 cepas de *E. coli* O157, encontraron que 220 (61%) fueron sensibles a los 13 antibióticos probados. De manera similar a los resultados observados en nuestro estudio, ellos también observaron resistencia a Cefalotina (17%) y a Ampicilina (13%). Además, el mayor índice de resistencia que encontraron fue de un 27% para la Tetraciclina, contrario al detectado en este trabajo, en el que se detectó mayor susceptibilidad. No obstante, nuestros resultados son semejantes a los observados por Franco (39), que afirma que las cepas de *E.coli* son en su gran mayoría, resistentes a los antibióticos probados, independientemente de si las cepas son patógenas o no. Los resultados de los antibiogramas, similares a otros trabajos, pueden ser explicados por la existencia de plásmidos y transposones que juegan un papel importante en la transferencia de resistencia de una célula a otra (40,41,42).

Conclusión

La presencia de bacterias patógenas en la carne bovina y en productos cárnicos constituye un problema de Salud Pública en virtud de que estos agentes produzcan Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) y por consecuencia pérdidas económicas. Los resultados encontrados en este estudio alertan sobre la necesidad de actualizar los patrones de carne bovina comercializada en Brasil, una vez que la Resolución RDC no 12 (43) no establece como pruebas analíticas los estudios cuali- y cuantitativos para este alimento en referencia a los coliformes fecales y *Escherichia coli*. Además, se resalta la necesidad de poner en práctica programas de monitorización como Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), Procedimientos Patrón de Higiene Operacional (PPHO) y Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC). Aun cabe resaltar, que la probabilidad de que aparezcan bacterias con relevante potencial patogénico, seleccionadas en relación al carácter de resistencia a antibióticos, reafirma la importancia de los aislamientos y los estudios de dichos microorganismos emergentes con relación a su perfil de sensibilidad a antibióticos.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado con el apoyo del Consejo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (CNPq – Brasil). Agradecemos al Instituto Oswaldo Cruz la cesión de las cepas utilizadas como cultivos patrones. Maria Carmela Kasnowski recibe una beca concedida por la Coordinación de Perfeccionamiento de Personal de Nivel Superior (Capes – Brasil). Los autores quieren agradecer a Nuria Arranz Guerrero por la valiosa y crítica revisión realizada en el artículo.

Resumen

Los brotes de Enfermedades Transmisibles por Alimentos (ETA) representan una preocupación para las industrias alimentarias y los organismos de salud pública. Las cepas patógenas de *Escherichia coli* están comúnmente presentes en el trato intestinal de los animales, lo que favorece la contaminación durante el sacrificio o durante un procesamiento inadecuado de la canal. La importancia que la carne tiene en la alimentación humana junto con la necesidad de ofrecer un alimento inocuo e incapaz de transmitir enfermedades, incitaron el desarrollo de este estudio, que tiene por objetivos, detectar, caracterizar los serogrupos y realizar los antibiogramas de *E. coli* aisladas de 30 muestras de carne de ternera (babilla) comercializadas en mercados y carnicerías de Río de Janeiro, Brasil. Se emplearon 15 muestras de carne entera y 15 de carne picada (en el propio establecimiento). Se utilizaron diferentes metodologías para la confirmación bioquímica y serológicamente de las colonias aisladas. Una vez identificados los serogrupos, se testó su susceptibilidad a diferentes antibióticos. De las muestras analizadas, el 100% resultaron contaminadas con coliformes totales y en cinco (16,7%) de ellas, no se detectaron coliformes fecales. En carne entera, los recuentos de coliformes totales oscilaron de $4,0 \times 10^3$ a $1,1 \times 10^6$ y *E. coli* de 0 a $2,4 \times 10^3$ mientras que en carne picada oscilaron de $4,4 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^7$ y 0 a $3,0 \times 10^5$, respectivamente. Con relación a la metodología empleada, el segundo método demostró ser más eficiente que el tercer método, ya que presentó un mayor número de colonias confirmadas. Utilizando el segundo método, se aislaron 52 cepas de *E. coli* enteropatogénica (EPEC), ocho cepas de *E. coli* enteroinvasiva (EIEC) y una cepa de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC). Las cepas de *E. coli* aisladas y tipificadas como patógenas presentaron un gran espectro de resistencia a los antibióticos testados, principalmente a ampicilina (11,32%), cefalotina (11,11%) y amicacina (10,06%). La presencia de serogrupos de *E. coli* en las muestras confirman la necesidad de implantar los programas de Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), Procedimientos Patrón de Higiene Operacional (PPHO) y Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC), lo que disminuiría el riesgo para el consumidor.

Palabras clave: Escherichia coli, carne de ternera entera y picada, antibiograma.

Abstract

The outbreaks of foodborne diseases constitute a target of concern to the food industries and to the public health agencies. Pathogenic variants of *Escherichia coli* are usually present in the intestinal tract of animals, making possible the contamination of the carcass and meat cuts during slaughtering or by inadequate processing. The importance of meat as human food associated to the needs of having a safety food which is not capable to cause illnesses, had induced to the development of this research with the objective to detect, to characterize the serogroups and to make antibiograms of strains of *E. coli*. Thirty samples of beef (heart of rump) sold in supermarkets and butchers of Rio de Janeiro (Brazil) were analysed. Of these samples, 15 were composed by whole beef and 15 were grounded in each own establishment. Different methodologies for the biochemical and serologically confirmation were used. After identification, the strains were also tested for antibiotic susceptibility. In relation to the samples analysed, 100% of them were contaminated with total coliforms and five of them (16.7%) did not detect fecal coliforms. The count of total coliforms and *E. coli* fluctuated from 4.0×10^3 to 1.1×10^6 and 0 to 2.4×10^3 in whole meat, respectively, whereas in ground beef, it was from 4.4×10^3 to 2.5×10^7 and 0 to 3.0×10^5 , respectively. In relation to the methodology used, the second method was more efficient than the third method, because it presented a greater number of confirmed colonies. Using the second method, we isolated 52 strains of enteropathogenic *E. coli* (EPEC), eight strains of enteroinvasive *E. coli* (EIEC) and one strain of enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC). The strains of *E. coli* isolated and characterized as pathogenic displayed great spectrum of antibiotic resistance, mainly to ampiciline (11.32%), cefalotin (11.11%) and amicacine (10.06%). The presence of the serogroups of *E. coli* in the examined samples stands out the need of programs of Good Manufacturing Practice (GMP), Sanitation Standard Operation Procedures (SSOP), and Hazard Analysis and Critical Control Points (HACCP); to preserve the consumer's health.

Key words: Escherichia coli, whole and ground beef, antibiogram.

Referencias

1. Felício, P.E. 1998. Desdobramento da qualidade de carne bovina. Hig. Aliment. Vol. 12 No. 54: 16-22.
2. Gill C.O., J. Bryant and C. Landers 2003. Identification of critical control points for control of microbiological contamination in processes leading to the production of ground beef at a packing plant. Food Microbiol. 20 (6): 641-650.
3. Barkocy-Gallagher G.A., K.K. Edwards, X. Nou, J.M. Bosilevac, T.M. Arthur, S.D. Shackelford, and M. Koohmaraie 2005. Methods for recovering *Escherichia coli* O157:H7 from cattle fecal, hide, and carcass samples: sensitivity and improvements. J. Food Prot. 68 (11): 2264–2268.
4. Marzocca M.A., P.L. Marucci, M.G. Sica y E.E. Álvarez 2006. Detección de *Escherichia coli* O157:H7 en carne picada fresca y hamburguesas congeladas. Rev. Argent. Microbiol. Vol. 38: 38-40.
5. Brasil 2002. Manual das doenças transmitidas por alimentos. *Escherichia coli* O157:H7 – enterohemorrágica. Centro Brasileiro de Vigilância Sanitária – Divisão de Doenças e Transmissão Hídrica e Alimentar. São Paulo. 126 pp.
6. Estrada-García T., J.F. Cerna, L. Paheco-Gil, R.F. Velázquez, T.J. Ochoa, J. Torres and H.L. DuPont 2005. Drug-resistant diarrheogenic *Escherichia coli*, México. Emerging Infect. Dis. 11(8): 1306-1308.
7. Barlow R.S., K.S. Gobius and P.M. Desmarchelier 2006. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in ground beef and lamb cuts: results of a one-year study. Int. J. Food Microbiol. 111(1): 1-5.
8. Hobbs, B.C. e D. Roberts 1999. Toxinfecções e controle higiênico-sanitário de alimentos. Editorial Varela 425pp.
9. Franco, B.D.G.M e M. Landgraf 1996. Microrganismos patogênicos de importância em alimentos. En Microbiologia de Alimentos. [B.D.G.M Franco e M. Landgraf] Ed. Atheneu. Cap. 4: p.33-82.
10. Buchanan, R.L. and M.P. Doyle 1997. Foodborne disease significance of *Escherichia coli* O157:H7 and other enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Food Technol. 51 (10): 69-76.
11. Merck 2000. Diagnóstico rápido de *E. coli* com os meios de cultura Fluorocult. Editorial Merk 382pp.
12. Mehlman, I.J. and J. Lovett 1984. Enteropathogenic *Escherichia coli*. In Bacteriological analytical manual. Editorial Association of Official Analytical Chemists p.6.01.
13. Toledo M.R.F., C.F. Fontes e L.R. Trabulsi 1982. Mili- Um meio para realização dos testes de motilidade, indol e lisina descarboxilase. Rev. Microbiol. Vol.13 No. 3: 230-235.
14. Toledo M.R.F., C.F. Fontes e L.R. Trabulsi 1982. EPM- Modificação do meio de Rugai e Araújo para realização simultânea dos testes de produção da gás a partir da glicose, H₂S, urease e triptofano desaminase. Rev. Microbiol. Vol.13 No. 4: 309-315.
15. Merck 1996. Microbiology manual culture media. Editorial Merk 405pp.
16. Probac do Brasil 1998. Meios para identificação de enteropatógenos. En Soros para identificação bacteriana. Editorial Probac do Brasil 75pp.
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards 1990. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility test. 10 (7): 35-49.
18. Bauer A.W., M.M. Kirby, J.L. Sherris and M. Turck 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45: 493-496.

19. Leite C.Q.F., S.R. Valentini e D.P. Falcão 1988. Pesquisa de enteropatógenos em alimentos cárneos crus. Ci. Tecnol. Aliment. Vol. 8 No. 2: 115-227.
20. Costa, F.N., L.M.C. Alves e S.S. Monte. 2000. Avaliação das condições higiênico-sanitárias de carne bovina moída, comercializada na cidade de São Luís, MA. Hig. Aliment. Vol.14 No. 77: 49-52.
21. Franco, B.D.G.M e M. Landgraf., *Op. cit.*
22. Brasil. *Op. cit.*
23. Cerqueira A.M.F., A. Tibana and B.E.C. Guth 1997. High occurrence of Shiga-Like toxin producing strains among diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from raw beef products in Rio de Janeiro city, Brazil. J. Food Prot. 60 (2): 177-180.
24. Trabulsi, L.R. 1999. Bactéria encontrada no hambúrguer pode ser mortal. Editorial Agência USP de Notícias. 389: 99-101.
25. Cerqueira A.M.F., *et al, Op.cit.*
26. Franco, R.M. 2002. *Escherichia coli*: ocorrência em suínos abatidos na Grande Rio e sua viabilidade experimental em lingüiça frescal tipo Toscana. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária – Universidade Federal Fluminense 153 pp.
27. Hobbs, B.C. e D. Roberts., *Op.cit.*
28. Franco, B.D.G.M e M. Landgraf., *Op. cit.*
29. Onoue, Y., H. Konuma, H. Nakagawa, Y. Hara-Kudo, T. Fujita and S. Kumagai 1999. Collaborative evaluation of detection methods for *Escherichia coli* O157:H7 from radish sprouts and ground beef. Int. J. Food Microbiol. 46: 27-36
30. Zhao T., M.P. Doyle, M.C. Kemp, R.S. Howell and P. Zhao 2004. Influence of freezing and freezing plus acidic calcium sulfate and lactic acid addition on thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in ground beef. J. Food Prot. 67(8): 1760-1764.
31. Silva N., V.C.A. Junqueira e N.F.A. Silveira 1997. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. Editorial Varela 295pp.
32. Onoue, Y., *et al, Op.cit.*
33. Chirinos R.R.O., D.M. Vizeu, M.T. Destro, B.D.G.M. Franco and M. Landgraf 2002. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 in hamburgers by gamma irradiation. Braz. J. Microbiol. 33: 53-56.
34. Zhao T., *et al, Op.cit.*
35. Petri C.M., L.A.F. Antunes e H.O. Saridakis 1989. *Escherichia coli* em produtos cárneos comercializados em Londrina- PR. Freqüência de *Escherichia coli* Enteropatogênica Clássica (EPEC). Rev. Microbiol. Vol.20 No. 4: 421-426.
36. Meng J., S. Zhao, M.P. Doyle and S.W. Joseph 1998. Antibiotic resistance of *Escherichia coli* O157:H7 and O157:NM isolated from animals, food, and humans. J. Food Prot. 61 (11): 1511-1514.
37. Oliveira L.A.T., T. Ferreira, R.M. Franco, e J.C.A.P. Carvalho 1999. Enumeração de *Escherichia coli* e *Enterococcus* em amostras de hambúrguer de frango, comercializadas em Niterói/RJ. Avaliação da sensibilidade a antimicrobianos das cepas isoladas. Hig. Aliment. Vol.13 No. 63: 49-55.

38. Schroeder C.M., C. Zhao, C. DebRoy, J. Torcolini, S. Zhao, D.G. White, D.D. Wagner, P.F. Mc Dermott, R.D. Walker and J. Meng 2002. Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* O157 isolated from humans, cattle, swine, and food. *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (2): 576-581.

39. Franco, R.M. *Op.cit.*

40. Trabulsi, L.R. e M.R.F. Toledo 1989. Resistência bacteriana a droga. En *Microbiologia* [L.R. Trabulsi] Ed. Atheneu, Cap. 13: 86-89.

41. Franco, R.M. *Op.cit.*

42. Schroeder C.M., *et al*, *Op.cit.*

43. Brasil 2001. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12, de 2 de janeiro de 2001. Diário Oficial da União, Brasília.