

**Estrategias de intervención para mitigar el impacto de  
*Escherichia coli* productor de toxina Shiga en la cadena cárnica  
bovina.**

**Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA),  
Centro de Investigación de Agroindustria (CIA),  
Instituto Tecnología de Alimentos (ITA).**

**Autor: Mariana Cap  
Director: Dr. Gerardo Leotta  
Co-Director: Dr. Sergio Vaudagna**

**2021**

Dedicada a mi familia.

Veterinaria como mi madre e Investigadora como mi padre. Sin duda fueron, son y serán mi ejemplo a seguir. Cualquier intento de agradecimiento es insuficiente pero aquí va de todos modos ¡GRACIAS!

A mi pequeña Julia que con esa dulzura y carisma me alegra la vida y me llena de energía. A Benja, que si bien todavía no nos conocemos ya me explota el corazón de amor. A Agus, por darme esta hermosa familia, por creer en mí y por apoyarme incondicionalmente.

A mis compañeros de trabajo, porque nada en la vida se logra trabajando solos. Les agradezco el compromiso y el esfuerzo que le han brindado a este proyecto.

Finalmente, a mis directores, Gerardo Leotta y Sergio Vaudagna, por acompañarme, guiarme y por ayudarme a crecer como profesional.

# Índice de contenido

Resumen en español.....	16
Resumen en inglés.....	18
1 Introducción.....	20
1.1 <i>Escherichia coli</i> productor de toxina Shiga (STEC).....	21
1.2 Manifestaciones clínicas.....	21
1.3 Reservorio y prevalencias en productos cárnicos.....	22
1.4 Vías de transmisión.....	22
1.5 Criterios de riesgo de la carne bovina.....	22
1.6 Estrategias de intervención.....	23
1.6.1 Agua Electroactivada (AE).....	23
1.6.2 Ácido Peroxiacético (AP).....	24
1.6.3 Ácido Láctico (AL).....	25
1.6.4 Ácido Caprílico (AC).....	26
1.6.5 Irradiación Gamma.....	27
2 Hipótesis.....	29
3 Objetivos.....	31
3.1 Objetivo general.....	32
3.2 Objetivos específicos.....	32
4 Capítulo 1 – Evaluación de intervenciones tendientes a reducir la presencia de STEC en cortes de carne bovina.....	34
4.1 Objetivos específicos.....	35
4.2 Materiales y métodos.....	35
4.2.1 Diseño experimental.....	35
4.2.2 Materia prima.....	35
4.2.3 Control de materia prima.....	36
4.2.4 Preparación de las muestras.....	36
4.2.5 Cepas bacterianas y preparación del inóculo.....	37
4.2.6 Inoculación de las muestras.....	38
4.2.7 Aplicación de intervenciones.....	38
4.2.8 Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una concentración alta de STEC.....	40
4.2.9 Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una concentración baja de STEC.....	40
4.2.10 Evaluación de las propiedades fisicoquímicos y los atributos sensoriales.....	40
4.2.11 Análisis estadístico.....	45

4.3	Resultados .....	46
4.3.1	Control de materia prima .....	46
4.3.2	Efectividad para reducir STEC en muestras inoculadas con una alta concentración de células .....	47
4.3.3	Efectividad para reducir STEC en muestras inoculadas con baja concentración de células. ....	48
4.3.4	Efectos sobre los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales .....	51
4.4	Discusión .....	56
4.5	Conclusiones .....	59
5	Capítulo 2 – Evaluación de intervenciones tendientes a reducir la presencia de STEC en recortes de carne bovina. ....	61
5.1	Objetivos específicos .....	62
5.2	Materiales y métodos .....	62
5.2.1	Diseño experimental .....	62
5.2.2	Materia prima .....	62
5.2.3	Control de materia prima .....	63
5.2.4	Preparación de las muestras .....	63
5.2.5	Cepas bacterianas y preparación del inóculo .....	64
5.2.6	Inoculación de la muestra .....	64
5.2.7	Aplicación de intervenciones .....	64
5.2.8	Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una alta concentración de cepas STEC .....	65
5.2.9	Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una baja concentración de cepas STEC .....	65
5.2.10	Evaluación de propiedades fisicoquímicos y atributos sensoriales. ....	65
5.2.11	Análisis estadístico .....	68
5.3	Resultados .....	69
5.3.1	Efectividad para reducir STEC en muestras inoculadas con una alta concentración .....	69
5.3.2	Efectividad para reducir STEC en muestras inoculadas con una baja concentración .....	71
5.3.3	Efectos sobre parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales .....	74
5.4	Discusión .....	78
5.5	Conclusiones .....	82
6	Capítulo 3 – Evaluación de intervención tendiente a reducir la presencia de STEC en carne bovina picada .....	83
6.1	Objetivos específicos .....	84
6.2	Materiales y métodos .....	84
6.2.1	Diseño experimental .....	84
6.2.2	Materia prima .....	85

6.2.3	Control Materia prima .....	85
6.2.4	Preparación de la muestra.....	85
6.2.5	Cepas bacterianas y preparación del inóculo.....	85
6.2.6	Inoculación de la muestra .....	86
6.2.7	Aplicación de intervenciones .....	86
6.2.8	Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con alta concentración de STEC .....	86
6.2.9	Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una baja concentración de STEC .....	87
6.2.10	Evaluación de la aceptabilidad general del consumidor.....	87
6.2.11	Análisis estadístico .....	88
6.3	Resultados .....	89
6.3.1	Estimación de la dosis de irradiación gamma mínima.....	89
6.3.2	Efectividad de la dosis mínima en muestras con baja concentración de STEC. ....	92
6.3.3	Efecto del tratamiento de irradiación sobre la aceptabilidad del consumidor .....	93
6.4	Discusión.....	95
6.5	Conclusiones .....	97
7	Conclusiones generales.....	98
8	Referencias bibliográficas.....	100
9	ANEXO.....	108
9.1	Presentaciones a congresos y jornadas .....	109
9.2	Disertaciones.....	109
9.3	Publicaciones en revistas científicas.....	110

## Índice de Tablas

Tabla 1.1. Serotipo, origen y caracterización de las cepas STEC incluidas en el ensayo. .....	38
Tabla 4.2. Resultados del control microbiológico de los músculos enteros. ....	46
Tabla 4.3. Recuentos, expresados como el promedio de log UFC/g (desvío estándar), de STEC en las muestras de músculo <i>Semitendinosus</i> luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL) y ácido peroxiacético (AP). .....	47
Tabla 4.4. Parámetros cromáticos de los músculos <i>Semitendinosus</i> crudos antes y después del tratamiento con ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC). ....	53
Tabla 4.5. Parámetros de calidad de los músculos <i>Semitendinosus</i> cocidos control y tratados con ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC). ....	54
Tabla 4.6. Resultados de la evaluación visual de color y de las diferencias globales de flavor de los músculos <i>Semitendinosus</i> tratados con ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC). ....	55
Tabla 5.7. Recuentos, expresados como el promedio de log UFC/g (desvío estándar), de STEC en muestras de recortes tratados con ácido láctico (AL), ácido caprílico (AC), baja dosis de irradiación (BDI), BDI+AL, BDI +AC y alta dosis de irradiación (ADI). ...	69
Tabla 5.8. Parámetros de calidad de hamburguesas preparadas con recortes control, tratados con baja dosis de irradiación (BDI), BDI combinado con ácido láctico (BDI+AL) y alta dosis de irradiación (ADI). ....	76
Tabla 5.9. Resultados de la evaluación visual de color de las hamburguesas preparadas con recortes tratados con baja dosis de irradiación (BDI), BDI combinado con ácido láctico (BDI+AL) y alta dosis de irradiación (ADI). ....	77
Tabla 6.10. Promedios de aceptabilidad de las hamburguesas preparadas con carne bovina picada irradiada con 2,5 kGy. ....	94
Tabla 9.11. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con agua (diluyente de ácido láctico, peroxiacético y agua electroactivada). ....	111
Tabla 9.12. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con etanol 95% (diluyente de ácido caprílico). ....	112
Tabla 9.13. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido láctico (AL)...	113

Tabla 9.14. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con agua electroactivada (AE). .....	114
Tabla 9.15. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido peroxiacético (AP). .....	115
Tabla 9.16. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido caprílico (AC). .....	116
Tabla 9.17. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC agua (diluyente de ácido láctico, peroxiacético y agua electroactivada). .....	117
Tabla 9.18. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con etanol 95% (diluyente de ácido caprílico).....	118
Tabla 9.19. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido láctico (AL)...	119
Tabla 9.20. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con agua electroactivada (AE). .....	120
Tabla 9.21. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido peroxiacético (AP). .....	121
Tabla 9.22. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido caprílico (AC). .....	122
Tabla 9.23. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes control inoculados con una alta concentración de STEC. ....	123
Tabla 9.24. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con ácido láctico al 0,5% (AL 0,5%). .....	124
Tabla 9.25. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con ácido caprílico 0,04 % (AC 0,04%) .....	125
Tabla 926. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy). .....	126

Tabla 9.27. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy) combinado con ácido láctico 0,5% (AL) .....	127
Tabla 9.28. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy) combinado con ácido caprílico 0,04% (AC). .....	128
Tabla 9.29. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con alta dosis de irradiación (ADI – 2 kGy). .....	129
Tabla 9.30. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes control inoculados con una alta concentración de STEC. ....	130
Tabla 9.31. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido láctico 0,5% (AL). .....	131
Tabla 9.32. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido caprílico 0,04% (AC). .....	132
Tabla 9.33. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy). .....	133
Tabla 9.34. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy) combinado con ácido láctico 0,5% (AL). .....	134
Tabla 9.35. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy) combinado con ácido caprílico 0,04% (AC). .....	135
Tabla 9.36. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con alta dosis de irradiación (ADI – 2 kGy). .....	136
Tabla 9.37. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O26 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy). .....	137
Tabla 9.38. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O103 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy). .....	138

Tabla 9.39. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O111 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy). .....	139
Tabla 9.40. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O145 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy). .....	140
Tabla 9.41. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O157 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy). .....	141
Tabla 9.42. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de un coctel de cepas STEC y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy). .....	142

## Índice de gráficos

Gráfico 4.1. Reducciones logarítmicas de STEC en muestras del músculo Semitendinosus luego del tratamiento con ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL) y ácido peroxiacético (AP). .....	48
Gráfico 4.2. Número de bacterias injuriadas en muestras del músculo Semitendinosus luego del tratamiento con ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL) y ácido peroxiacético (AP). .....	48
Gráfico 4.3. Porcentaje de las muestras de músculo Semitendinosus positivas para los genes <i>stx</i> <sub>1</sub> , <i>stx</i> <sub>2</sub> y <i>eae</i> luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL) y ácido peroxiacético (AP). .....	49
Gráfico 4.4. Porcentaje de las muestras de músculo Semitendinosus positivas para el marcador molecular de O157 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC). .....	50
Gráfico 4.5. Porcentaje de las muestras de músculo Semitendinosus positivas para el marcador molecular de O103 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC). .....	50
Gráfico 4.6. Porcentaje de las muestras de músculo Semitendinosus positivas para el marcador molecular de O111 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico. ....	50
Gráfico 4.7. Porcentaje de las muestras de músculo Semitendinosus positivas para el marcador molecular de O145 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC). .....	51
Gráfico 4.8. Porcentaje de las muestras de músculo Semitendinosus positivas para el marcador molecular de O26 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC). .....	51
Gráfico 5.9. Reducciones logarítmicas en muestras de recortes tratados con baja dosis de irradiación (BDI) + ácido láctico (AL), BDI + ácido caprílico (AC), BDI y alta dosis de irradiación (ADI). .....	70
Gráfico 5.10. Recuentos de bacterias injuriadas en muestras de recortes tratados con baja dosis de irradiación (BDI) + ácido láctico (AL), BDI + ácido caprílico (AC), BDI y alta dosis de irradiación (ADI). .....	71
Gráfico 5.11. Porcentaje de muestras de recortes positivas para los genes <i>stx</i> <sub>1</sub> , <i>stx</i> <sub>2</sub> y <i>eae</i> luego del tratamiento con ácido láctico (AL), ácido caprílico (AC), baja dosis de irradiación (BDI), BDI+AL, BDI + AC y alta dosis de irradiación (ADI). .....	72

Gráfico 5.12. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O157 luego del tratamiento con ácido láctico (AL), ácido caprílico (AC), baja dosis de irradiación (BDI), BDI+AL, BDI + AC y alta dosis de irradiación (ADI).....	72
Gráfico 5.13. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O103 luego del tratamiento con ácido láctico (AL), ácido caprílico (AC), baja dosis de irradiación (BDI), BDI+AL, BDI + AC y alta dosis de irradiación (ADI).....	73
Gráfico 5.14. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O111 luego del tratamiento con ácido láctico (AL), ácido caprílico (AC), baja dosis de irradiación (BDI), BDI+AL, BDI + AC y alta dosis de irradiación (ADI).....	73
Gráfico 5.15. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O145 luego del tratamiento con ácido láctico (AL), ácido caprílico (AC), baja dosis de irradiación (BDI), BDI+AL, BDI + AC y alta dosis de irradiación (ADI).....	74
Gráfico 5.16. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O26 luego del tratamiento con ácido láctico (AL), ácido caprílico (AC), baja dosis de irradiación (BDI), BDI+AL, BDI + AC y alta dosis de irradiación (ADI).....	74
Gráfico 6.17. Curva de inactivación, dosis de irradiación vs recuento, de STEC O26 inoculado en carne bovina picada.....	89
Gráfico 6.18. Curva de inactivación, dosis de irradiación vs recuento, de STEC O103 inoculado en carne bovina picada.....	90
Gráfico 6.19. Curva de inactivación, dosis de irradiación vs recuento, de STEC O111 inoculado en carne bovina picada.....	90
Gráfico 6.20. Curva de inactivación, dosis de irradiación vs recuento, de STEC O145 inoculado en carne bovina picada.....	91
Gráfico 6.21. Curva de inactivación, dosis de irradiación vs recuento, de STEC O157 inoculado en carne bovina picada.....	91
Gráfico 6.22. Curva de inactivación, dosis de irradiación vs recuento, del coctel de cepas inoculado en carne bovina picada.....	92
Gráfico 6.23. Porcentaje de muestras de carne bovina picada positivas para stx y eae luego del tratamiento de irradiación con 1 kGy. ....	93

## Índice de ilustraciones

Ilustración 1.1. Celda electrolítica diafragmática utilizada para la generación de Agua Electroactivada. ....	24
Ilustración 1.2. Clases de alimentos autorizados para ser tratados con energía ionizante, extraído del art. 174 del Cap. III del CAA. ....	28
Ilustración 4.3. Preparación de las muestras de corte para los ensayos 1 y 2. ....	37
Ilustración 4.4. Aplicación de los tratamientos de agua electroactivada, ácido peroxiacético, láctico y caprílico en muestras de cortes (ensayos 1 y 2). ....	39
Ilustración 4.5. Aplicación de los tratamientos de ácido láctico y caprílico en corte entero (ensayo 3). ....	41
Ilustración 4.6. Procedimiento para la medición del pH en muestra de músculo Semitendinosus. ....	42
Ilustración 4.7. Medición de parámetros de color en músculo Semitendinosus. ....	43
Ilustración 4.8. Medición de la resistencia de corte en muestras de músculo. ....	44
Ilustración 5.9. Preparación de muestras de recortes de carne vacuna (ensayo 1 y 2). ....	63
Ilustración 5.10. Preparación de hamburguesas a partir de recortes tratados y sin tratar. ....	65
Ilustración 5.11. Presentación de las hamburguesas para la evaluación visual de color. ....	67
Ilustración 5.12. Planilla entregada a cada panelista para la diferencia global de flavor de las hamburguesas preparadas con recortes tratados y sin tratar. ....	68
Ilustración 5.13. Hamburguesas preparadas con recortes tratados con baja dosis de irradiación (BDI), BDI combinado con ácido láctico (BDI+AL) y alta dosis de irradiación (ADI), luego de la cocción. ....	77
Ilustración 6.14. Muestra de carne bovina picada correspondiente al ensayo 1 y 2. ....	85
Ilustración 6.15. Inoculación de la muestra de carne bovina picada. ....	86
Ilustración 6.16. Hamburguesas preparadas con carne bovina picada irradiada y sin irradiar, luego de la cocción. ....	87
Ilustración 6.17. Presentación de las muestras de hamburguesas preparadas con carne bovina picada irradiada para la evaluación global de flavor. ....	88

## **Abreviaturas**

ADI: Alta dosis de irradiación (2 kGy)

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

AE: Agua Electroactivada

AL: Ácido Láctico

AP: Ácido Peroxiacético

APPCC: Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control

BDI: Baja dosis de irradiación (0,5 kGy)

BPA: Buenas Prácticas de Agricultura

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura

CA: (en inglés) Caprylic Acid

CAA: Código Alimentario Argentino

CNEA: Comisión Nacional de Energía Atómica

EW: (en inglés) Electrolyzed Water

FAO: (en inglés) Food and Agriculture Organization

FSIS: (en inglés) Food Safety and Inspection Service

Gy: Gray

HI: (en inglés) High Inoculum

IA: Inóculo Alto

IB: Inóculo Bajo

IC: Intervalo de Confianza

IPCVA: Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina

kGy: kilo Gray

LA: (en inglés) Lactic Acid

LEE: (en inglés) Locus Enterocyte Effacement

LI: (en inglés) Low Inoculum

LRN: Laboratorio de Referencia Nacional

MAC: MacConkey agar

MDA: Malondialdehido

MLG: Modelo Lineal Generalizado

ND: No detectado

OMS: Organización Mundial de la Salud

PA: (en inglés) Peroxiacetic Acid

PBS: (en inglés) Phosphate buffer Solution

PCR – TR: PCR en tiempo real

PCR: (en inglés) Polymerase Chain Reaction

PMT: Punto Mínimo de Tratamiento

PPC: Pérdida de Peso por Cocción

R: Referencia

SENASA: Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria

STEC: (en inglés) Shiga toxin producing *Escherichia coli*, (en español) *Escherichia coli* productor de Toxina Shiga

SUH: Síndrome Urémico Hemolítico

TBA: (en inglés) Thiobarbituric acid

TBARS: (en inglés) Thiobarbituric acid reactive substances

TSB: (en inglés) Tryptic Soy Broth

TSBm: (en inglés) modified Tryptic Soy Broth

TSP: Fosfato Trisódico

UE: Unión Europea

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

USDA: (en inglés) United States Department of Agriculture

## Resumen en español

*Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) es un patógeno de transmisión alimentaria que causa diarrea sanguinolenta, colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. La carne contaminada con STEC impacta en el ámbito de la salud pública por el riesgo de enfermar al consumidor y en el ámbito económico por la pérdida que implica el rechazo de la carne contaminada con destino a la exportación. En este contexto, existe una fuerte demanda de evaluar la efectividad de los tratamientos antimicrobianos disponibles en el país frente a cepas nativas de STEC O157 y no O157. El objetivo del presente trabajo fue evaluar, estandarizar y promover estrategias de intervención para reducir la presencia de STEC (O157 y no-O157) en cortes, recortes (materia prima para la preparación de hamburguesas) picada de carne bovina. Para ello, se realizaron 3 ensayos. En el ensayo 1 se evaluó la efectividad de ácido láctico (AL), ácido peroxiacético (AP), ácido caprílico (AC) y agua electroactivada (AE) para reducir STEC en cortes de carne vacuna. En el ensayo 2 se evaluó la efectividad de AL, AC e irradiación, solos y combinados, para reducir la presencia de STEC en recortes de carne bovina y, en el ensayo 3 se evaluó la efectividad de irradiación gamma para reducir STEC en carne bovina picada. En los 3 ensayos se evaluaron los efectos sobre los atributos sensoriales de las intervenciones más efectivas sobre las distintas matrices cárnicas evaluadas y, en los ensayos 1 y 2 también se evaluaron los efectos sobre los parámetros fisicoquímicos. El inóculo consistió en un coctel de cepas autóctonas de STEC pertenecientes a los serogrupos O26, O103, O111, O145 y O157. Las muestras se inocularon con dos concentraciones de bacterias, alta y baja. Las muestras con alta concentración de STEC se analizaron por recuento en placa y las muestras con baja concentración de STEC se enriquecieron y se analizaron por PCR en tiempo real. La efectividad se evaluó en términos de número de reducciones logarítmicas para las muestras con IA y en términos de reducción del porcentaje de muestras positivas para los genes *stx* y *eae* en las muestras con IB. Los resultados del ensayo 1 evidenciaron que, de los 4 tratamientos analizados, sólo el AC fue efectivo con reducciones de 0,8 log UFC/g en las muestras con IA y del 77% en las muestras con IB. Los resultados del ensayo 2 evidenciaron que el tratamiento más efectivo fue el de irradiación con 2 kGy con reducciones de más de 5 log UFC/g en las muestras con IA y del 100 % en las muestras con IB. La combinación de AL e irradiación aumentó la letalidad en muestras con IA pero no en muestras con IB. Los resultados del ensayo 3 de las muestras con IA evidenciaron que 1 kGy sería suficiente para reducir 5 log UFC/g en carne bovina picada. Sin embargo, al exponer las muestras con IB a dicha dosis no se alcanzó la inactivación

total. Con respecto a los efectos sobre los parámetros fisicoquímicos y los atributos sensoriales de los productos cárnicos se concluyó que las modificaciones fueron mínimas. Los resultados de este trabajo demuestran la importancia de evaluar la efectividad de los tratamientos antimicrobianos con más de un nivel de inóculo y constituyen un aporte de conocimiento para reducir la contaminación de STEC en carne bovina sin alterar de manera significativa los parámetros fisicoquímicos ni los atributos sensoriales de la misma.

## Resumen en inglés

Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) are foodborne pathogens that can cause bloody diarrhea, hemorrhagic colitis and hemolytic uremic syndrome. The meat contaminated with STEC impacts on the public health due to the risk of making the consumer sick and on the economy due to the loss implied by the rejection of contaminated meat destined for export. In this context, there is a strong demand to evaluate the effectiveness of the antimicrobial treatments available in the country against native STEC O157 and non-O157 strains. The aim of the present study was to evaluate, standardize and promote intervention strategies to reduce the presence of STEC O157 and non-O157 in beef cuts, beef trimmings (raw material for beef burger preparation) and ground beef. For that matter, we conducted three assays. In assay 1, we evaluated the efficacy of lactic acid (LA), peroxyacetic acid (PA), caprylic acid (CA) and electrolyzed water (EW) to reduce STEC in beef cuts. In assay 2, we evaluated the efficacy of LA, CA and gamma irradiation, alone and combined, to reduce STEC in beef trimmings. In assay 3, we evaluated the efficacy of gamma irradiation to reduce STEC in ground beef. In the 3 assays, the effects on the sensory attributes of the most effective interventions on the different meat matrices analyzed were evaluated, and in assays 1 and 2 the effects on physicochemical parameters were also evaluated. The inoculum consisted in a cocktail of native STEC strains that belonged to the following serogroups: O26, O103, O111, O145 and O157. Samples were inoculated with two bacterial concentrations, high and low. Samples with high inoculum (HI) were analyzed by plate count while samples with low inoculum (LI) were analyzed by real-time PCR after an enrichment step. Effectiveness was estimated in terms of log reductions for samples with HI and in terms of reduction of the percentages of positive samples for *stx* and *eae* genes in samples with LI. Results from assay 1 demonstrated that from the four interventions evaluated, only CA was effective to reduce STEC. The achieved reductions were 0.8 log CFU/g in samples with HI and 77% in samples with LI. Results from assay 2 demonstrated that the most effective treatment to reduce STEC was 2 kGy of gamma irradiation as the reduction was higher than 5 log CFU/g in samples with HI and of 100% in samples with LI. The combined treatment of LA and gamma irradiation increased STEC lethality in samples with HI but not in samples with LI. Results from assay 3, demonstrated that 1 kGy was enough to reduce 5 log CFU/g in ground beef samples with HI. However, when samples with LI were subjected to that dose it did not achieve a total STEC inactivation. The results of the present study demonstrate the importance of assessing antimicrobial treatments with more than one level of inoculum. Furthermore, increase the knowledge

about different strategies to reduce STEC contamination in beef products without significantly affecting nor physicochemical characteristics neither sensory attributes.

---

# 1 Introducción

---

## 1.1 *Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC)

*Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) hace referencia a un grupo de cepas de *Escherichia coli* que sintetizan la toxina Shiga (Stx). Algunas, presentan una isla de patogenicidad denominada LEE (*locus enterocyte effacement*) en donde se encuentra el gen *eae* que codifica para una proteína denominada Intimina, la cual es responsable de la unión íntima de la bacteria al enterocito y de la desorganización de las microvellosidades con producción de la lesión A/E (*attaching and effacing*) (McDaniel y col., 1995). Se considera que ciertos patotipos STEC-LEE positivos son altamente virulentos. Las cepas STEC son identificadas serológicamente a través de dos antígenos de superficie, el somático (O) y el flagelar (H). Se estima que hay ~ 470 serotipos de STEC (Mora y col., 2012). El serotipo más frecuentemente asociado a enfermedad es el O157:H7. Sin embargo, en los últimos años también se han identificado otros 6 serogrupos: O26, O45, O103, O111, O121 y O145 (Gould y col., 2013).

## 1.2 Manifestaciones clínicas

STEC causa una diversidad de manifestaciones clínicas, desde diarreas acuosas, hasta un cuadro de alta gravedad como el Síndrome Urémico Hemolítico (SUH). Ésta es una enfermedad de comienzo agudo con anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, y compromiso renal agudo que se presenta generalmente a continuación de un episodio de diarrea con o sin sangre. Estos síntomas pueden acompañarse de fiebre, vómitos, dolor abdominal, y anuria u oliguria. Además, puede afectar otros órganos como el sistema nervioso central, pulmones, páncreas y corazón, y llevar a la muerte debido a complicaciones neurológicas, intestinales, cardíacas o a infecciones intercurrentes (Karpman y col., 2016). Se estima que en el año 2010 a nivel mundial ocurrieron 2,5 millones de casos nuevos de enfermedad por STEC que resultaron en 269 muertes y 27000 años de vida ajustados por discapacidad (Kirk y col., 2015). En Argentina, durante las semanas 1 a 52 del 2020, se notificaron 305 casos de SUH. La incidencia acumulada fue de 0,67 casos cada 100.000 habitantes y de 9,7 casos por cada 100.000 niños en el grupo de 1 año. El 77% de los casos notificados correspondieron a menores de 5 años. El Laboratorio de Referencia Nacional (LRN) para STEC del INEI-ANLIS “Dr. Carlos G. Malbrán” analizó 400 cepas STEC asociadas a casos de SUH en la Argentina correspondientes al período 2016-2020 e informó que el 58,75% correspondieron al serotipo O157:H7 y el 41,25% a serotipos no-O157. Dentro de los no-O157 el más frecuente fue O145:NM[H28] con una frecuencia del 25%

seguido de O121:H19 con 4%, O26:H11 y NT:HNT con 3%, O103:H2 con 2% y O59:H19 con 1% (Boletín Integrado de Vigilancia N°560, 2021).

### 1.3 Reservorio y prevalencias en productos cárnicos

En distintos países, entre los que se incluye a la Argentina, se han realizado numerosos estudios sobre la prevalencia de STEC en animales que han permitido confirmar el rol del ganado vacuno como uno de los reservorios más importantes (Kim y col., 2020; Masana y col., 2010, 2011). Recientemente se ha publicado que la prevalencia promedio estimada de *stx* en frigoríficos de Argentina con plan de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) sería de 23,3% en carcasas y 28,4% en cortes enteros; mientras que en frigoríficos sin APPCC sería de 42,7% en carcasas y de 48,8% en cortes enteros. Asimismo, se informa que la prevalencia estimada de *stx* en carne bovina picada sería de 73,8% (Brusa y col., 2020).

### 1.4 Vías de transmisión

Por muchos años se dio por sentado que la transmisión tenía su origen en productos derivados de la carne bovina, crudos o insuficientemente cocidos. Sin embargo, se ha demostrado que, alrededor del 60% de los casos de STEC notificados en todo el mundo no se pudieron atribuir a ninguna fuente. Del 40% restante, el 18,2% fue asociado con carne bovina, el 15,6% con hortalizas y el 5,5% con productos lácteos (FAO, 2018). Se han identificado otros factores de riesgo como el contacto con animales de granja y la presencia de niños menores de 5 años en la familia que asisten a la guardería o al jardín de infancia (Rivas y col., 2008). También se señala la importancia de evaluar el papel de los portadores asintomáticos en la transmisión de STEC de persona a persona (vía fecal-oral) (Baba y col., 2019; Fernández-Brando y col., 2017).

### 1.5 Criterios de riesgo de la carne bovina

Organismos tales como el Food Safety and Inspection Service (FSIS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), así como, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) poseen criterios para determinar el riesgo de la carne de exportación en cuanto a la presencia de cepas STEC. Como método de análisis utilizan una PCR en tiempo real (PCR-TR) que detecta el gen que codifica para la toxina Shiga, gen *stx*, el gen que codifica para la Intimina, gen *eae* y los marcadores moleculares de serogrupo O26, O45, O103, O111, O121, O145 y O157. Según EFSA aquellas muestras

positivas para *stx*, *eae*, O157, O111, O26, O103 y O145 se consideran con presencia presuntiva de STEC altamente patógena para humanos (ISO 13136:2012). Según USDA, además de las mencionadas para EFSA, se incluyen los serogrupos O45 y O121 (USDA-FSIS, 2014). En Argentina, la ley 18.284 declara vigente las disposiciones higiénico-sanitarias, bromatológicas y de identificación comercial descriptas en el Código Alimentario Argentino (CAA). En él se considera como criterio microbiológico obligatorio de la carne picada fresca, la ausencia de *E. coli* O157:H7/NM en 65 g de muestra y la ausencia de STEC O145, O121, O26, O111 y O103 en 65 g de muestra (CAA art 255 y 255 bis cap. VI, 2015). Los métodos de análisis corresponden a los mismos mencionados con anterioridad (ISO, 13136:2012; USDA-FSIS, 2014). Asimismo, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) dispone de normativas específicas para *E. coli* O157:H7 y STEC no-O157 incluyendo los serogrupos O26, O45, O103, O145, O121 y O145 (Circulares 3834, 4032, 4210B, 4221, 4274).

## 1.6 Estrategias de intervención

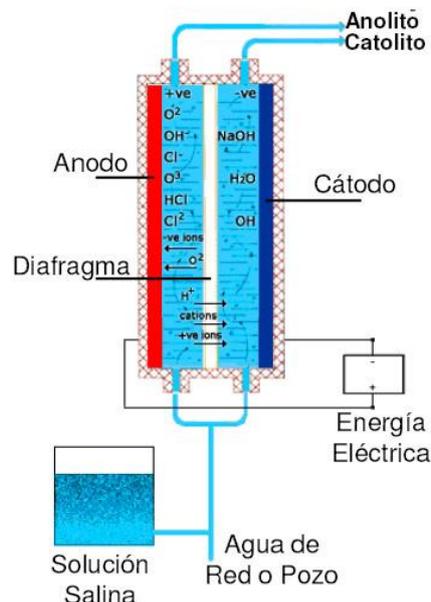
Se han realizado numerosos estudios que buscan mitigar el efecto de STEC en la cadena cárnica bovina con resultados diversos (Signorini y col., 2018; Sohaib y col., 2016). Los tratamientos de descontaminación propuestos fueron químicos, físicos e incluso biológicos. Dentro de los tratamientos químicos se incluyen los ácidos orgánicos tales como el ácido láctico, cítrico, acético, peroxiacético, caprílico y agua electroactivada, entre otros (Hulankova y col., 2013; Kalchayanand y col., 2012; Rahman y col., 2016). Dentro de los tratamientos físicos se pueden mencionar a las tecnologías no térmicas de preservación como la radiación ionizante, altas presiones hidrostáticas, radiación UV, entre otros (Hsu y col., 2015; Xavier y col., 2014).

### 1.6.1 Agua Electroactivada (AE)

Es una solución acuosa que se obtiene por el paso de una mezcla de agua y sal común de mesa (NaCl), a través de una celda electrolítica diafragmática (Ilustración 1.1). Después del inicio de la electrólisis, en la cámara catódica se produce una solución acuosa detergente con un pH de 11,5 a 12 y con gran poder desengrasante. En la cámara anódica los iones cargados negativamente (OH<sup>-</sup> y Cl<sup>-</sup>) liberan electrones, ácido hipocloroso (HOCl), ion hipoclorito (-OCl), ácido clorhídrico (HCl), gas oxígeno (O<sub>2</sub>) y cloro gaseoso (Cl<sub>2</sub>) (Hricova y col., 2008). La sustancia química predominante es el

ácido hipocloroso (HOCl), un compuesto altamente biocida. Se cree que la actividad antimicrobiana se debe a la inhibición de actividad enzimática esencial para el crecimiento microbiano, daño a la membrana y al ADN, y alteración de las funciones de transporte de la membrana (Rahman y col., 2016). Veasey y Muriana (2016) evaluaron la efectividad de una solución 250 ppm de cloro libre frente a una suspensión bacteriana de *E. coli* O157, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* spp. e informaron una reducción superior a 6 ciclos logarítmicos. Con respecto a su efectividad para reducir STEC en productos cárnicos, no hay consenso. Por un lado, Signorini y col., (2018) evaluaron el efecto del AE en carcasas bovinas y no observaron diferencias significativas entre los recuentos bacteriológicos de las muestras tratadas con AE y los correspondientes a las muestras control. Por el otro, Rahman y col., (2010), informaron que tras los tratamientos con AE ácida y ligeramente ácida durante 3 min se observaron reducciones de 1,64 y 1,72 log UFC/g, respectivamente, en los recuentos de STEC inoculados artificialmente en cortes de carne vacuna.

Ilustración 1.1. Celda electrolítica diafragmática utilizada para la generación de Agua Electroactivada. Esquema tomado de Envirolife.com.ar; disponible en: <https://envirolife.com.ar/aguas-electroactivadas/>



### 1.6.2 Ácido Peroxiacético (AP)

Es un compuesto orgánico ( $CH_3CO_3H$ ) que se produce alimentando de manera continua ácido acético y peróxido de hidrógeno en un medio de reacción acuoso que contiene ácido sulfúrico como catalizador. Si bien los datos de investigación disponibles respecto a su modo de acción como agente antimicrobiano son limitados, se puede especular que funciona de manera similar a otros peróxidos y agentes oxidantes, es decir, por

oxidación y subsecuente ruptura de la membrana celular, mediante el radical hidroxilo (Block, 1991). Los eventos que probablemente estén asociados con la actividad antimicrobiana de este compuesto incluyen: grupos sulfhidrilo y enlaces disulfuro de proteínas, enzimas y otros metabolitos se oxidan y que los enlaces dobles reaccionen; que se interrumpa la función quimiostática de la membrana citoplasmática (o membrana externa en bacterias gram-negativas) y que se interrumpa el transporte por dislocación o simplemente que haya ruptura de las paredes celulares (Baldry, 1988; Leaper, 2007). Además, el AP intracelular puede oxidar enzimas esenciales; por lo tanto, las vías bioquímicas vitales, el transporte activo a través de las membranas y los niveles de solutos intracelulares se ven afectados (Fraser y col., 1984). Asimismo, el AP tiene la ventaja de poder inactivar la catalasa, una enzima conocida por inactivar los radicales hidroxilos libres (Kitis, 2004). Se encuentra aprobado para su aplicación en carcasas en EE.UU. (USDA, 2015). La máxima tolerancia aprobada de este ácido es de 400 ppm; aunque la concentración que normalmente se utiliza para el lavado, enjuague, enfriado o en otras etapas del procesamiento es de 200 ppm. Al igual que lo descrito para el AE, no hay consenso en cuanto a su efectividad para reducir STEC en productos cárnicos. Algunos autores describieron que el AP no resultó efectivo para reducir *E.coli* en productos cárnicos mientras que otros informaron reducciones de por lo menos 1 log UFC/g (Kalchayanand y col., 2012; King y col., 2005; Mohan y Pohlman, 2016; Ransom y col., 2003; Signorini y col., 2018).

### **1.6.3 Ácido Láctico (AL)**

El ácido láctico ( $C_3H_6O_3$ ) se produce durante la respiración anóxica o por fermentación de varios microorganismos bacterianos, incluidas las bacterias ácido lácticas. La eficacia antimicrobiana está relacionada con el pH y la forma no disociada del ácido, ya que ésta es la que puede penetrar la membrana lipídica de las células con mayor facilidad y, una vez adentro, disociarse (Davidson y Taylor, 2007). Los protones generados a partir de la disociación intracelular del ácido orgánico acidifican el citoplasma y deben ser eliminados al exterior. De acuerdo a la teoría quimiostática, la membrana citoplasmática es impermeable a los protones y deben ser transportados al exterior. Esta extrusión de protones crea un potencial electroquímico a través de la membrana llamada "fuerza protomotiva" (PMF). Esta perturbación de la función de la membrana por los ácidos orgánicos da lugar a un mecanismo inhibitorio afectando gravemente a su metabolismo, ya que afecta al gradiente de protones y de carga con el exterior, e interfiere con los sistemas de transporte de aminoácidos y fosfatos. Además, muchas enzimas esenciales para el metabolismo microbiano se inactivan a pH ácidos

(Santapaola, 2013). El AL está aprobado por USDA-FSIS para su aplicación en canales de animales (pre y post-enfriamiento; hasta 5%), en cortes y en recortes (2-3%), entre otros (USDA-FSIS, 2010). La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) convalidó en el Reglamento (UE) 101/2013 el uso de AL para la descontaminación de superficies de reses y carne bovina (Comisión Europea, 2013). Si bien su uso en la industria cárnica está muy extendido, no hay consenso en lo que refiere a su efectividad para reducir STEC en productos cárnicos. Kalchayanand y col., (2012) informaron que luego de tratar un corte de carne bovina fresca con AL 4% por spray registraron reducciones en el recuento de STEC entre 1,6 y 3,1 log UFC/g, dependiendo del serogrupo analizado. En Argentina, se demostró que la aplicación automatizada de AL al 2% y 3% en carcasas redujo entre 0,8 y 1 log UFC/400 cm<sup>3</sup> el recuento de coliformes y entre 16 y 80% el porcentaje de muestras positivas a *stx* (Signorini y col., 2018). Sin embargo, Harris y col., (2012) informaron que tras tratar de recortes de carne vacuna con AL al 2 y al 5% por spray, no se registraron reducciones significativas en el recuento de *E. coli* O157:H7.

#### 1.6.4 Ácido Caprílico (AC)

El ácido caprílico (C<sub>8</sub>H<sub>16</sub>O<sub>2</sub>) es un ácido graso saturado de ocho carbonos, de origen natural que se encuentra en altas concentraciones en la leche humana, vacuna, en el aceite de palma y en el aceite de coco. El mecanismo de acción no se conoce con exactitud, pero se cree que el blanco principal es la membrana celular, donde el ácido caprílico probablemente altera la cadena de transporte de electrones y la fosforilación oxidativa (Desbois y Smith, 2010). Según el Comité Mixto FAO / OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios, el AC es seguro cuando se usa como aroma (JECFA, 2005). En los EE. UU. ha sido aprobado para aplicación superficial en carne lista para el consumo y productos cárnicos a una concentración máxima de 400 ppm (USDA, 2015). Los primeros trabajos científicos en los que se evaluó su potencialidad como agente bactericida en alimentos fueron publicados en el año 2012-2013 (Baskaran y col., 2013; Choi y col., 2013; Mohan y col., 2012). En los mismos los autores evaluaron su efectividad contra *Cronobacter sakazakii* y *Salmonella* Typhimurium en fórmula infantil, contra *E. coli* O157:H7 en jugo de zanahoria, en recortes de carne vacuna y en cueros (Baskaran y col., 2013; Choi y col., 2013; Kim y Rhee, 2015; Mohan y col., 2012). Su efectividad frente a cepas autóctonas de STEC y en las concentraciones aprobadas para su uso en productos cárnicos no ha sido evaluada hasta el momento.

### 1.6.5 Irradiación Gamma

La irradiación consiste en exponer el producto a la acción de radiaciones ionizantes durante un tiempo determinado, proporcional a la cantidad de energía que deseemos que el alimento absorba. Esta cantidad de energía por unidad de masa de producto se define como dosis, y su unidad es el Gray (Gy), que es la absorción de un Joule de energía por kilo de masa irradiada (IAEA - *International Atomic Energy Agency*, 2015). La Norma General del *Codex Alimentarius* para Alimentos Irradiados (FAO, 2003) contempla los siguientes tipos de radiación ionizante para el tratamiento de alimentos: rayos gamma procedentes de los radionucleidos  $^{137}\text{Cs}$  o  $^{60}\text{Co}$ ; electrones acelerados (formando haces de electrones) con una energía máxima de 10 MeV y rayos X con una energía máxima de 5 MeV. Los rayos gamma y X están compuestos de fotones con buena a muy buena capacidad de penetración. Los electrones acelerados, tal como su nombre lo indica están compuestos de electrones cuya capacidad de penetración es limitada. Si bien la penetración de los rayos X y gamma a 7,5 MeV es comparable, la mayor energía de los fotones X hace mucho más uniforme la distribución de la dosis en el producto tratado (IAEA, 2015). En Argentina contamos con una única fuente de irradiación que es la irradiación gamma.

Cuando la radiación ionizante es absorbida en un material biológico produce dos tipos de efectos. Por un lado, hay un efecto directo, dado por la ionización de las moléculas de ácido desoxirribonucleico (ADN) y ribonucleico (ARN) del núcleo celular, dando lugar a cambios que conducen a la muerte de la célula. Este tipo de efecto predomina cuando se irradian microorganismos esporulados, con muy bajo contenido de agua. Por otro lado, hay también un efecto indirecto, ya que la radiación interacciona con otros átomos y moléculas de la célula, entre ellos el agua, dando lugar a reacciones complejas, generándose también radicales libres, capaces de difundir hasta dañar los ácidos nucleicos. Este efecto es importante en microorganismos en forma vegetativa, cuyo citoplasma contiene alrededor de un 80 % de agua. Adicionalmente se pueden considerar los daños a la membrana celular, la inactivación de enzimas y la consecuente alteración de la actividad metabólica.

Hasta junio 2017, el Código Alimentario Argentino autorizaba la irradiación de papa, cebolla y ajo para inhibir la brotación; de frutilla para prolongar la vida útil; de champignon y espárrago para retardar senescencia; y de especias, frutas y vegetales deshidratados, para reducir la contaminación microbiana. Luego, se incorporaron nuevas categorías de alimentos irradiados como pescados y mariscos; aves, carne bovina, porcina, caprina, y alimentos de origen animal desecados (Ilustración 1.2) (CAA art. 174 cap. III, 2017). Este artículo especifica la definición de irradiación de alimentos,

los requisitos tecnológicos, las clases de alimentos autorizados y el límite de dosis permitida, según la clase de alimentos y el objetivo del proceso, la re-irradiación, los requisitos generales del procedimiento, las fuentes de radiación permitidas, la dosis absorbida, las instalaciones y control del procedimiento, el rotulado obligatorio, envasado y la verificación necesaria post-irradiación. Debe destacarse que los tratamientos de alimentos con radiación ionizante no representan ningún peligro para la salud, aunque para la autorización de los mismos, debe probarse la existencia de una necesidad tecnológica razonable, y no deben utilizarse como reemplazo de los hábitos higiénico-sanitarios incluidos en las buenas prácticas de manufactura (BPM) o de agricultura (BPA), ni tampoco para reducir niveles inaceptablemente altos de contaminación microbiana (CNEA, 2020). Su efectividad contra STEC en productos cárnicos ya ha sido informada por otros autores (Clavero y col., 1994; Sommers y col., 2015; Thayer y Boyd, 1993). Sin embargo, en lo que a nuestro conocimiento respecta, no se han evaluado los efectos de tratamientos combinados (irradiación gamma + ácidos orgánicos) y sólo se ha evaluado el efecto de la misma en muestras con alta concentración de bacterias.

Ilustración 1.2. Clases de alimentos autorizados para ser tratados con energía ionizante, extraído del art. 174 del Cap. III del CAA.

CLASE DE ALIMENTOS Y PROPÓSITO DE LA IRRADIACION	LÍMITE MÁXIMO (kGy)
CLASE 1 – BULBOS, TUBÉRCULOS Y RAÍCES Propósito: Inhibir la brotación durante el almacenamiento	0,2
CLASE 2 – FRUTAS Y VEGETALES FRESCOS (distintos de los de la Clase 1) Propósitos: a) Retrasar la maduración. b) Desinfestación de insectos. c) Control de microorganismos alterantes. d) Control cuarentenario.	1,0 1,0 2,5 1,0
CLASE 3 – CEREALES Y SUS HARINAS, LEGUMBRES, SEMILLAS OLEAGINOSAS, FRUTAS SECAS Propósitos: a) Desinfestación de insectos. b) Control de microorganismos alterantes y patógenos.	1,0 5,0
CLASE 4 – VEGETALES Y FRUTAS DESECADOS O DESHIDRATADOS, CONDIMENTOS VEGETALES(*), TE Y HIERBAS PARA INFUSIONES Propósitos: a) Control de microorganismos patógenos. b) Desinfestación de insectos.	10 1,0
CLASE 5 – HONGOS DE CULTIVO COMESTIBLES, FRESCOS Propósitos: a) Control de microorganismos alterantes	3,0
CLASE 6 – PESCADOS Y MARISCOS, Y SUS PRODUCTOS (FRESCOS Y CONGELADOS) Propósitos: a) Control de microorganismos alterantes y patógenos. b) Control de parásitos.	5,0 (**) 2,0 (***)
CLASE 7 – AVES, CARNES BOVINA, PORCINA, CAPRINA, OTROS Y SUS PRODUCTOS (FRESCOS Y CONGELADOS) Propósitos: a) Control de microorganismos alterantes y patógenos. b) Control de parásitos.	7,0 (**) 3,0 (***)
CLASE 8 – ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL DESECADOS Propósitos: a) Control de insectos. b) Control de hongos.	1,0 3,0

\*La dosis media global absorbida no deberá ser mayor de 30 kGy.

(\*\*) La dosis mínima es definida sobre la base de la calidad higiénica del producto.

(\*\*\*) La dosis mínima puede ser definida sobre la base del tipo de parásito

---

## **2 Hipótesis**

---

Los tratamientos químicos y/o físicos evaluados en la tesis reducen la presencia de STEC en carne bovina argentina, con efecto mínimo sobre las propiedades fisicoquímicas y los atributos sensoriales de la misma.

---

### **3 Objetivos**

---

### 3.1 Objetivo general

Evaluar, optimizar y promover estrategias de intervención para reducir la presencia de STEC (O157 y no-O157) en cortes, recortes y picada de carne bovina.

### 3.2 Objetivos específicos

- Evaluar la efectividad del agua electroactivada, ácido peroxiacético, ácido láctico y ácido caprílico como estrategias de intervención tendientes a reducir la presencia de STEC en cortes de carne bovina previo al envasado.
- Evaluar el efecto de las 2 intervenciones con mayor efectividad, seleccionadas en el objetivo anterior, sobre las propiedades fisicoquímicas y los atributos sensoriales de cortes de carne bovina.
- Evaluar la efectividad de ácido láctico, ácido caprílico, irradiación con baja dosis e irradiación con dosis moderada como tratamientos individuales y la irradiación con baja dosis combinada con ácido láctico o con ácido caprílico como estrategias de intervención tendientes a reducir la presencia de STEC en recortes de carne bovina (materia prima para la preparación de hamburguesas).
- Evaluar el efecto de las 2 intervenciones con mayor efectividad, seleccionadas en el objetivo anterior, sobre las propiedades fisicoquímicos y los atributos sensoriales de recortes de carne bovina.
- Evaluar la efectividad de la irradiación gamma como estrategia de intervención tendiente a reducir la presencia de STEC en carne bovina picada a través de la estimación de la dosis de irradiación mínima necesaria para reducir 5 ciclos logarítmicos de la contaminación con cepas STEC O26, O103, O111, O145, O157 en forma individual y con estas cepas en forma de coctel.
- Evaluar la efectividad de la dosis mínima de irradiación en muestras de carne bovina picada inoculadas con baja concentración de STEC O157 y con baja concentración del coctel de cepas STEC.

- Evaluar la aceptabilidad del consumidor de la carne bovina picada irradiada en comparación con la carne bovina picada control (no irradiada).

---

**4 Capítulo 1 – Evaluación de intervenciones tendientes a reducir la presencia de STEC en cortes de carne bovina.**

---

## 4.1 Objetivos específicos

- Evaluar la efectividad del agua electroactivada, ácido peroxiacético, ácido láctico y ácido caprílico como estrategias de intervención tendientes a reducir la presencia de STEC en cortes de carne bovina previo al envasado
- Evaluar el efecto de las 2 intervenciones con mayor efectividad, seleccionadas en el objetivo anterior, sobre las propiedades fisicoquímicas y los atributos sensoriales de cortes de carne bovina.

## 4.2 Materiales y métodos

### 4.2.1 Diseño experimental

Se realizaron 3 ensayos. En el ensayo 1, se evaluó la efectividad de los tratamientos en muestras inoculadas con una alta concentración de STEC. En el ensayo 2, se evaluó la efectividad de los tratamientos en muestras inoculadas con una baja concentración de STEC. En el ensayo 3, se evaluaron los efectos de los tratamientos más efectivos sobre las propiedades fisicoquímicas y los atributos sensoriales de los cortes de carne enteros. Para los ensayos 1 y 2 se realizó un diseño completamente aleatorizado en el que se utilizaron 30 réplicas (porción de músculo *Semitendinosus* de  $25\pm 2$  g de peso) para cada tratamiento y 30 muestras control. Cada tratamiento se repitió 6 veces y en cada repetición, el tratamiento se aplicó a 5 muestras. El tamaño de la muestra fue suficiente para detectar una reducción en la carga de bacterias de 0,8 log con una desviación standard de 1 (con un 95.0% como intervalo de confianza, IC) en las muestras inoculadas con alta concentración de STEC y una reducción en la prevalencia del 20% (95% IC) en muestras inoculadas con baja concentración de STEC. Para el ensayo 3 se realizó un diseño completamente aleatorizado en el que se utilizaron 3 músculos por cada tratamiento y 3 músculos como control.

### 4.2.2 Materia prima

Se utilizaron músculos *Semitendinosus* bovino (pecetos, código 2468R del Nomenclador Argentino de Carnes Vacunas, Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina) adquiridos en un frigorífico habilitado para exportación a la Unión Europea. Los mismos se trasladaron envasados al vacío (BB2620, Cryovac Inc, EE. UU.) y en condiciones de refrigeración (0 a 2°C) al Laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnología de Alimentos (ITA, CIA, INTA).

### 4.2.3 Control de materia prima

Se realizó el control de la materia prima solamente en los músculos *Semitendinosus* destinados para el ensayo 1 y 2. Para ello, se muestreó la superficie del corte para determinar el recuento de bacterias aerobias mesófilas y enterobacterias por cm<sup>2</sup> y para determinar la presencia de cepas STEC a través de la detección de los genes *stx* y *eae*. Para esto, se agregaron 25 ml de agua peptonada (Biokar, Francia) al 0,1% a una bolsa estéril conteniendo una esponja deshidratada (Whirl-Pak Nasco, EE. UU). La esponja se escurrió presionando la bolsa externamente y se extrajo con guantes limpios. Se esponjeo la totalidad de la superficie y se devolvió la esponja a la bolsa. Para recontar bacterias aerobias mesófilas y enterobacterias se tomaron alícuotas de 1 ml de muestra y se sembraron en agar *Plate Count* (PCA, Oxoid, Reino Unido) y en agar *Violet Red Bile Dextrose* (VRBD, Oxoid, Reino Unido), respectivamente. Luego se incubaron a 37°C por 48 h. Para la detección de STEC se agregaron 125 ml de caldo Trypticase Soja modificado (TSBm, Biokar, Francia) a la bolsa y se incubó a 42°C por 18h. La extracción de ADN se realizó con el *kit Extraction Pack Food 1* (Pall Corporation, Francia), siguiendo las instrucciones del fabricante. La detección de los genes de interés se realizó por PCR en tiempo real (PCR-TR). Para lo cual, un volumen del extracto de ADN se transfirió al disco específico para la detección simultánea de los genes *stx* y *eae* (*Pall Gene Disc Plate*, Pall Corporation, Francia). Luego, se colocó en el equipo de PCR-TR (*Pall Gene Disc Cycler*, Pall Corporation, Francia) y se procedió con los ciclos de amplificación.

### 4.2.4 Preparación de las muestras

Para los ensayos 1 y 2, se realizaron cortes de 25±2 g de peso y de 25 cm<sup>2</sup> de superficie con un sacabocado de acero inoxidable de 2,82 cm de radio de los músculos *Semitendinosus*, los cuales se envasaron al vacío BB2620 (Sealed Air de Argentina SA, Argentina) (Ilustración 4.3). Las muestras se mantuvieron congeladas (-20±1°C) hasta su tratamiento. Para el ensayo 3 se utilizaron músculos *Semitendinosus* enteros refrigerados y envasados al vacío.

Ilustración 4.3. Preparación de las muestras de corte para los ensayos 1 y 2.



#### **4.2.5 Cepas bacterianas y preparación del inóculo**

Se utilizó un coctel de cepas autóctonas de STEC. Su serotipo, origen y caracterización genómica esta descripto en la Tabla 4.1. Las cepas conservadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  se repicaron en agar MacConkey (MAC, Biokar, Francia) y se incubaron a  $37^{\circ}\text{C}$  durante 24 h. Una colonia aislada de cada cepa se transfirió a caldo Tripticasa Soja (TSB, Oxoid, Reino Unido) y se incubó a  $37^{\circ}\text{C}$  por 20 h para obtener células en fase estacionaria. Para la preparación del inóculo se centrifugó 1 ml de cada cepa a  $3000 \times g$  durante 5 min en una centrífuga 5417C (Eppendorf, Alemania) y el pellet obtenido se suspendió en igual volumen de una solución de buffer fosfato (PBS, Oxoid, Reino Unido). Este procedimiento se repitió una vez. Luego, se preparó un coctel mezclando volúmenes iguales de cada suspensión. La densidad óptica se midió con un espectrofotómetro (Metrolab 330, Metrolab, Argentina) para ajustar la concentración del inóculo a  $10^8$  UFC/ml. El coctel permaneció refrigerado ( $4 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) no más de 1 h hasta su inoculación.

Tabla 1.1. Serotipo, origen y caracterización de las cepas STEC incluidas en el ensayo.

Serotipo	Origen	Caracterización genómica	Identificación interna
O26:H11	Carne bovina	<i>stx<sub>1</sub>/eae</i>	LAMA 330
O145:NM	SUH	<i>stx<sub>2</sub>/eae</i>	LAMA 58
O111:NM	Diarrea	<i>stx<sub>1</sub>/eae</i>	LAMA 36
O103:H2	Carne bovina	<i>stx<sub>2</sub>/eae</i>	LAMA 1404
O157:H7	Carne bovina	<i>stx<sub>2</sub>/eae</i>	IGEVET 798

#### **4.2.6 Inoculación de las muestras**

Para el procedimiento de inoculación, las muestras fueron removidas asépticamente de su envase en una cabina de seguridad biológica 2B (Forma Scientific Inc., EE.UU.). Sobre la superficie de la muestra se colocaron 50 µl de inóculo y se esparcieron con una espátula de Drigalsky de manera tal que quedara distribuido homogéneamente en la muestra. La concentración final fue de 10<sup>5</sup> UFC/g en las muestras inoculadas con una alta concentración de STEC (ensayo 1) y de 10<sup>1</sup> UFC/g en las muestras inoculadas con una baja concentración de STEC (ensayo 2). Finalmente, se dejaron reposar durante 15 min a temperatura ambiente para permitir la adherencia celular antes de aplicar las intervenciones. Se incluyeron muestras inoculadas sin tratar y muestras sin inocular y sin tratar como control.

#### **4.2.7 Aplicación de intervenciones**

Las intervenciones evaluadas fueron: ácido láctico (AL), ácido peroxiacético (AP), ácido caprílico (AC) y agua electroactivada (AE). La aplicación se realizó sumergiendo 1 parte de muestra en 3 partes de solución durante 15 s (Ilustración 4.4). Las temperaturas de las soluciones al momento de la aplicación fueron de: 20°C para AE y AP y de 50°C para AL y AC. Las temperaturas de los tratamientos se definieron en función de las recomendaciones de los fabricantes y datos bibliográficos (Greer y Dilts, 1992). Luego, se envasaron al vacío y se mantuvieron refrigeradas a 4±1°C hasta su análisis. Las muestras control se sumergieron en igual condiciones en las soluciones diluyentes las cuales fueron agua para AL, AP y AE y etanol 95% para AC.

Ilustración 4.4. Aplicación de los tratamientos de agua electroactivada, ácido peroxiacético, láctico y caprílico en muestras de cortes (ensayos 1 y 2).



#### 4.2.7.1 Agua Electroactivada

El producto fue provisto por la empresa Envirolife (Argentina). La concentración de uso fue de 50 ppm. Antes de su aplicación se registraron parámetros fisicoquímicos como pH mediante un pHmetro (Thermo Orion, EE.UU.) y concentración de cloro libre por titulación iodométrica.

#### 4.2.7.2 Ácido Peroxiacético

El producto fue provisto por la empresa Ecolab (Argentina). El nombre comercial es “Inspexx 200” y se describe como un compuesto antimicrobiano que contiene ácido peroxiacético, ácido peroxioctanoico, ácido acético, ácido octanoico, peróxido de hidrógeno y ácido 1-hidroxietilideno-1, 1-disfosónico (HEDP). El principal agente antimicrobiano es el AP. La concentración de uso fue de 200 ppm. Previo a su aplicación se verificó la concentración por titulación iodométrica.

#### 4.2.7.3 Ácido Láctico

El AL fue provisto por la empresa ADAMA (Argentina). La concentración de uso fue de 2%. Previo a su aplicación se verificó el pH mediante un pHmetro (Thermo Orion, EE.UU.) y la concentración por titulación alcalimétrica con hidróxido de sodio 0,1N.

#### 4.2.7.4 Ácido Caprílico

El AC se adquirió de la empresa Sigma-Aldrich® (EE.UU.). La concentración de uso fue de 3% y al ser una sustancia no polar la disolución se realizó en etanol al 95%.

#### **4.2.8 Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una concentración alta de STEC**

Las muestras se analizaron al día 1 de cada intervención, para ello, fueron removidas asépticamente de su envase en una cabina de seguridad biológica 2B y se depositaron en bolsas estériles (Whirl-Pak Nasco, EE.UU.). Se agregaron 225 ml de agua peptonada (Biokar, Francia) al 0,1% para constituir una dilución inicial 1/10; se realizaron diluciones decimales sucesivas y se sembraron en TSA (Biokar, Francia) y en MAC (Biokar, Francia). Finalmente se incubaron a  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  por 24 h.

#### **4.2.9 Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una concentración baja de STEC**

Se procedió de igual forma a la descrita para las muestras inoculadas con una alta concentración de STEC, con la diferencia de que se agregaron 225 ml de TSBm y que se incubaron a  $42^{\circ}\text{C}$  durante 18 h. Luego se realizó la extracción de ADN con el *kit Extraction Pack Food 1* (Pall Corporation, Francia), siguiendo las instrucciones del fabricante. La detección de los genes de interés se realizó por PCR – TR (*Pall Gene Disc Cyclor*, Pall Corporation, Francia).

#### **4.2.10 Evaluación de las propiedades fisicoquímicos y los atributos sensoriales**

##### 4.2.10.1 Aplicación de los tratamientos

Los tratamientos se aplicaron por inmersión durante 15 s manteniendo una relación de 1 parte de carne y 4 partes de solución de AL 2% o AC 3%. Luego del tratamiento los músculos *Semitendinosus* enteros se dejaron reposar sobre una bandeja cribada durante 5 min para su escurrido (Ilustración 4.5).

Ilustración 4.5. Aplicación de los tratamientos de ácido láctico y caprílico en corte entero (ensayo 3).



#### 4.2.10.2 Cocción- pasteurización *sous vide*

Una vez envasados al vacío en bolsas *cook-in* (Cryovac CN510, Sealed Air, Argentina), todos los músculos fueron cocidos/pasteurizados en un autoclave con ducha de agua (Steriflow Barriquand modelo Microflow, Roanne, Francia) por lotes (el equipo se operó sin rotación del canasto). En cada lote se registró la curva de penetración de calor en el punto de mínimo tratamiento (PMT) de tres músculos (ubicados en el estante central y en el inferior del canasto). También se determinó la evolución de la temperatura en el interior del canasto del autoclave. En ambos casos se utilizaron termopares flexibles tipo T. Los termopares se colocaron en el PMT de los músculos a través de dispositivos stuffing box modelo C-5.2 (Ecklund-Harrison Technologies, Inc., EE. UU.) colocados en el envase plástico multilaminado. Los datos se registraron con un multímetro digital (Fluke Hydra 2625A, John Fluke Mfg. Co., Inc., EE. UU.) y se almacenaron en el disco rígido de una computadora personal conectada al multímetro mediante una placa RS32. Las lecturas de las temperaturas fueron tomadas a intervalos de 30 s y la precisión de la medición fue de  $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ . Se aplicó una combinación de temperatura-tiempo de  $70^{\circ}\text{C} - 2 \text{ min}$  en el PMT del músculo. Este tratamiento ha sido informado por (Gaze y col., 1989) y sugerido por *Harmonization of safety criteria for minimally processed foods* (FAIR CT 96-1020, 1999) para alcanzar una reducción de 6D de *L. monocytogenes* en productos cocidos-pasteurizados al vacío y almacenados bajo refrigeración. A su vez, esa combinación temperatura-tiempo fue aplicada en el procesamiento *sous vide* de cortes y músculos de carne bovina por Hansen y col., (1995) y Vaudagna y col., (2002, 2008). Inmediatamente después del tratamiento térmico, las muestras se sumergieron en un baño de agua-hielo hasta que la temperatura en el PMT alcanzó los  $26^{\circ}\text{C}$  (Vaudagna y col., 2002) y luego fueron almacenadas a  $1,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  por 18 h hasta su posterior estudio.

#### 4.2.10.3 Medición del pH

La medición del pH se realizó luego del tratamiento con soluciones de los ácidos, antes y después de la cocción. Para ello, se tomó una muestra de músculo *Semitendinosus*, se picó con una minipimer (Philips, Argentina), se pesaron 5 g de la carne picada, se colocaron en una bolsa estéril y se agregaron 25 ml de agua destilada (pH estabilizado en 7). Luego se colocó en homogeneizador (easy Mix, AES, Francia) durante 30 s y se dejó reposar durante 5 min en posición vertical. Posteriormente se transfirió a un vaso de precipitado. El pH se midió mediante un pHmetro (Thermo Orion, EE.UU.), previamente calibrado mediante el empleo de buffer pH 4 y pH 7. Se sumergió el electrodo de punción (TESTO 230, Alemania) y la sonda de temperatura en el centro de la solución, registrándose el valor obtenido tras la estabilización del equipo (Ilustración 4.6).

Ilustración 4.6. Procedimiento para la medición del pH en muestra de músculo *Semitendinosus*.



#### 4.2.10.4 Parámetros cromáticos

La medición de color se realizó en músculo *Semitendinosus* control, tratado y cocido. Para ello se utilizó un colorímetro (Minolta CR-40, Japón). Las condiciones experimentales fueron: observador 2º e Iluminante D65. Se utilizó la escala de color CIE Lab, determinándose los siguientes parámetros por sextuplicado en una de las superficies de la muestra obteniéndose los siguientes parámetros: L\*: luminosidad, tiene un valor de  $L^* = 0$  para el negro y  $L^* = 100$  para el blanco; a\*: coordenada verde (valores negativos) – rojo (valores positivos) y b\*: coordenada azul – amarillo (Ilustración 4.7).

Ilustración 4.7. Medición de parámetros de color en músculo *Semitendinosus*.

#### 4.2.10.5 Pérdida de peso por cocción

Se registró el peso de cada músculo antes y después de la cocción, empleándose una balanza de precisión ( $\pm 0,05\text{g}$ ) (Sartorius, Argentina). El resultado se calculó como la diferencia entre el peso inicial y final en relación al peso inicial, expresándose como porcentaje.

% Mermas por cocción =  $[(\text{Peso inicial} - \text{Peso final}) / \text{Peso inicial}] * 100$ .

#### 4.2.10.6 Evaluación de resistencia y trabajo de corte

Se utilizó un texturómetro marca Stable MicroSystems modelo TA.XT plus (Surrey, Reino Unido), empleando una celda de Warner Bratzler, con hoja en V, de acuerdo a las siguientes especificaciones: celda de carga: 50 Kg - tipo de test: compresión - velocidad de pre-test: 3mm/s - velocidad del test: 2 mm/s - velocidad del post-test: 30 mm/s - distancia: 30 mm y *trigger force*: 0,04903 N. A partir de las muestras cocidas y mantenidas en refrigeración, se tomaron ocho cilindros de 1,25 cm de diámetro y 2 cm de altura, extrayéndolos de modo paralelo al sentido de las fibras musculares, procediendo luego al cizallamiento de los mismos, siendo el sentido de corte perpendicular a la dirección de las fibras. El valor resultante del cizallamiento fue registrado por el software del equipo. Asimismo, cada uno de los cilindros se

sometió a la prueba de resistencia de corte, obteniéndose la resistencia de corte máxima (N) definida como la fuerza máxima desarrollada al producirse el cizallamiento completo de la muestra (Ilustración 4.8).

Ilustración 4.8. Medición de la resistencia de corte en muestras de músculo.



#### 4.2.10.7 Evaluación visual de color

Se realizó una evaluación visual de color en muestras de músculos *Semitendinosus* crudos envasadas al vacío, mediante una prueba de diferencia contra un control direccionada a color, utilizando dos controles ciegos. La prueba se realizó en un gabinete de luz estandarizada (D65, Verivide, CAC 120, Reino Unido). Se utilizó una escala continua de 10 cm, siendo 0: ninguna diferencia de color con respecto a la referencia y 10: diferencia muy grande de color con respecto a la referencia (R). El número de respuestas esperadas fue de 48 (24 con una replicación) para lo cual se reclutaron 24 consumidores (evaluadores no entrenados en el análisis de color). Las muestras se presentaron de a pares: Par 1: R vs control ciego del mismo músculo; Par 2: R vs control ciego de un músculo diferente; Par 3: R vs AC y Par 4: R vs AL. El orden de presentación de las muestras se basó en un diseño en bloque balanceado para cuatro muestras (Stone, 2012).

#### 4.2.10.8 Evaluación de diferencias globales de flavor

Para la evaluación de diferencias globales de flavor, los músculos se cortaron en trozos de 1,27 cm de largo x 1,27 cm de ancho x 1.5 cm de espesor. Se cocinaron de a dos en una plancha eléctrica industrial tipo bivalva (Ingeniería Gastronómica, Argentina) durante 2 min a 160°C hasta una temperatura interna de 70°C de acuerdo con las pautas proporcionadas por la American Meat Science Association (AMSA, 2015). La prueba se llevó a cabo en el Laboratorio de Evaluación Sensorial del Instituto Tecnología de Alimentos, equipado con cabinas de paneles que cumplen con las normas ISO (ISO 8589/2007) participaron ocho evaluadores entrenados. Cada panelista recibió dos trozos de cada muestra a  $\approx 60^\circ\text{C}$ ,

dispuestos en recipientes térmicos cerrados codificados con un número aleatorio de tres dígitos. La prueba se realizó por duplicado. Se proporcionó agua destilada y galletitas sin sal para limpiar el paladar entre muestras. Para la evaluación se utilizó una escala estructurada de 6 puntos con anclajes verbales (“no hay diferencia con respecto a la referencia”, “hay una diferencia muy pequeña”, “hay una diferencia pequeña”, “hay una diferencia moderada”, “hay una diferencia grande” y “hay una diferencia extremadamente grande”). El número de respuestas obtenidas fue de 16 (8 con una replicación). Todas las muestras se presentaron de a pares: Par 1: R vs control ciego del mismo músculo; Par 2: R vs control ciego de un músculo diferente; Par 3: R vs AC y Par 4: R vs AL y en forma simultánea. Se utilizó un diseño en bloque completo aleatorizado para evitar sesgos de presentación.

#### **4.2.11 Análisis estadístico**

En el ensayo 1, primero se realizó un análisis t-student para evaluar si había diferencias significativas entre los recuentos de STEC (TSA y MAC) de las muestras tratadas con etanol 95% (solvente del AC) y las muestras tratadas con AC. Luego, los recuentos de todos los tratamientos fueron analizados utilizando ANOVA. Como prueba pos hoc se utilizó la prueba de comparación múltiple de Duncan.

En el ensayo 2, se utilizó un modelo lineal generalizado (MLG) con variable independiente el tratamiento aplicado y dependiente cada una de las determinaciones ( $stx_1$ ,  $stx_2$ ,  $ee$  y de los marcadores moleculares para serogrupo). Se seleccionó un modelo logístico dado que las variables dependientes son dicotómicas (presencia/ausencia).

En el ensayo 3, los valores de pH, pérdida de peso por cocción, parámetros cromáticos, resistencia de corte máximo y fuerza de corte fueron analizados utilizando ANOVA. Para evaluar los resultados del análisis sensorial se realizó un análisis de varianza de dos factores (evaluador y tratamiento) para determinar diferencias significativas entre las muestras tratadas y la muestra referencia. Como prueba pos hoc se utilizó la prueba de comparación múltiple de Dunnett.

## 4.3 Resultados

### 4.3.1 Control de materia prima

Cada músculo fue identificado con un número del 1 al 20. De los 20, 7 resultaron negativos para los genes *stx* y *eae* (3, 4, 5, 8, 12, 17 y 18). El resto, fueron positivos para el gen *stx*<sub>2</sub>. Los músculos negativos se utilizaron como materia prima de las muestras inoculadas con una baja concentración de STEC con la finalidad de que tras el enriquecimiento la señal obtenida correspondiera a las cepas inoculadas y no a la microbiota preexistente. Los músculos positivos para *stx*<sub>2</sub> se utilizaron como materia prima de las muestras que fueron inoculadas con una alta concentración de cepas ya que la cantidad de microbiota preexistente era muy baja respecto a la concentración de STEC inoculada y por ende no alteraba la interpretación de los resultados. El recuento de enterobacterias fue, en todos los casos, menor al límite de detección (100 UFC/ml) (Tabla 4.2).

Tabla 4.2. Resultados del control microbiológico de los músculos enteros.

Identificación	<i>stx</i>	<i>eae</i>	Mesófilos (log UFC/cm <sup>2</sup> )	Enterobacterias (log UFC/cm <sup>2</sup> )
1	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,32	ND
2	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,26	ND
3	Negativo	Negativo	1,48	ND
4	Negativo	Negativo	1,74	ND
5	Negativo	Negativo	1,42	ND
6	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,31	ND
7	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,71	ND
8	Negativo	Negativo	1,16	ND
9	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,87	ND
10	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,50	ND
11	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,90	ND
12	Negativo	Negativo	1,81	ND
13	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,31	ND
14	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,74	ND
15	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,85	ND
16	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,21	ND
17	Negativo	Negativo	1,64	ND
18	Negativo	Negativo	1,30	ND
19	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	2,03	ND
20	Positivo para <i>stx</i> <sub>2</sub>	Negativo	1,54	ND

ND: no detectado. Límite de detección de la técnica 10 UFC/g.

### 4.3.2 Efectividad para reducir STEC en muestras inoculadas con una alta concentración de células

En la Tabla 4.3 se muestran los resultados obtenidos para las muestras inoculadas con una concentración alta de células STEC, expresados como promedios de log UFC/g del recuento en TSA y en MAC.

Tabla 4.3. Recuentos, expresados como el promedio de log UFC/g (desvío estándar), de STEC en las muestras de músculo *Semitendinosus* luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL) y ácido peroxiacético (AP).

Tratamiento	Recuento en TSA (log UFC/g)	Recuento en MAC (log UFC/g)
Agua	6,81 (0,19) a	6,72 (0,22) a
Etanol 95%	6,75 (0,09) a	6,68 (0,24) a
AC	5,99 (0,24) d	5,61 (0,29) c
AL	6,47 (0,22) c	6,20 (0,27) b
AE	6,76 (0,22) a	6,63 (0,20) a
AP	6,61 (0,22) b	6,20 (0,20) b

Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

Tras el análisis estadístico se observó que el efecto tratamiento fue significativo con un nivel de confianza del 95% (ANOVA de 1 factor). Por lo cual, se aplicó un test de comparaciones de medias para establecer las diferencias entre tratamientos.

Con respecto a los recuentos de bacterias viables en TSA, no se hallaron diferencias significativas entre las muestras tratadas con AE y las muestras control (agua y etanol 95%). En cuanto al AC, el AP y el AL, se observaron diferencias significativas con respecto al control y, entre ellos. El AC resultó ser el más efectivo, seguido por el AL y finalmente por el AP. A continuación, se estimaron las reducciones logarítmicas en aquellos tratamientos que resultaron estadísticamente diferentes al control (Gráfico 4.1). Las reducciones logarítmicas representan la diferencia entre el promedio del recuento en TSA de las muestras control y el promedio del recuento en TSA de las muestras intervenidas. Las mismas fueron de 0,82; 0,34 y 0,21 log UFC/g para AC, AL y AP, respectivamente.

Con respecto a los recuentos en MAC (medio selectivo), tampoco se hallaron diferencias significativas entre las muestras tratadas con AE y las muestras control (agua y etanol 95%). Mientras que sí se observaron diferencias significativas entre el AP, el AL y el AC respecto del control. Con relación a las diferencias entre tratamientos, el AC fue el más efectivo seguido por el AL y por el AP, entre estos últimos dos no se observaron diferencias significativas. Asimismo, se estimó la diferencia entre el promedio del recuento de bacterias en medio no selectivo (TSA) y el promedio del recuento de bacterias en medios selectivos (MAC). Esta

diferencia correspondió a la cantidad de bacterias injuriadas luego de cada intervención. En el Gráfico 4.2 se observa que las intervenciones que mayor injuria causaron fueron AP (0,41 log UFC/g) y AC (0,38 log UFC/g), seguido por AL (0,27 log UFC/g).

Gráfico 4.1. Reducciones logarítmicas de STEC en muestras del músculo *Semitendinosus* luego del tratamiento con ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL) y ácido peroxiacético (AP).

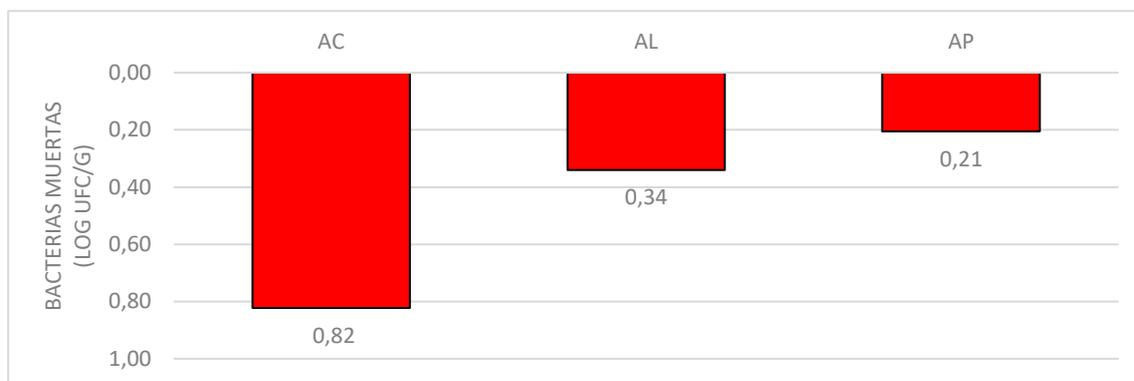


Gráfico 4.2. Número de bacterias injuriadas en muestras del músculo *Semitendinosus* luego del tratamiento con ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL) y ácido peroxiacético (AP).



#### 4.3.3 Efectividad para reducir STEC en muestras inoculadas con baja concentración de células.

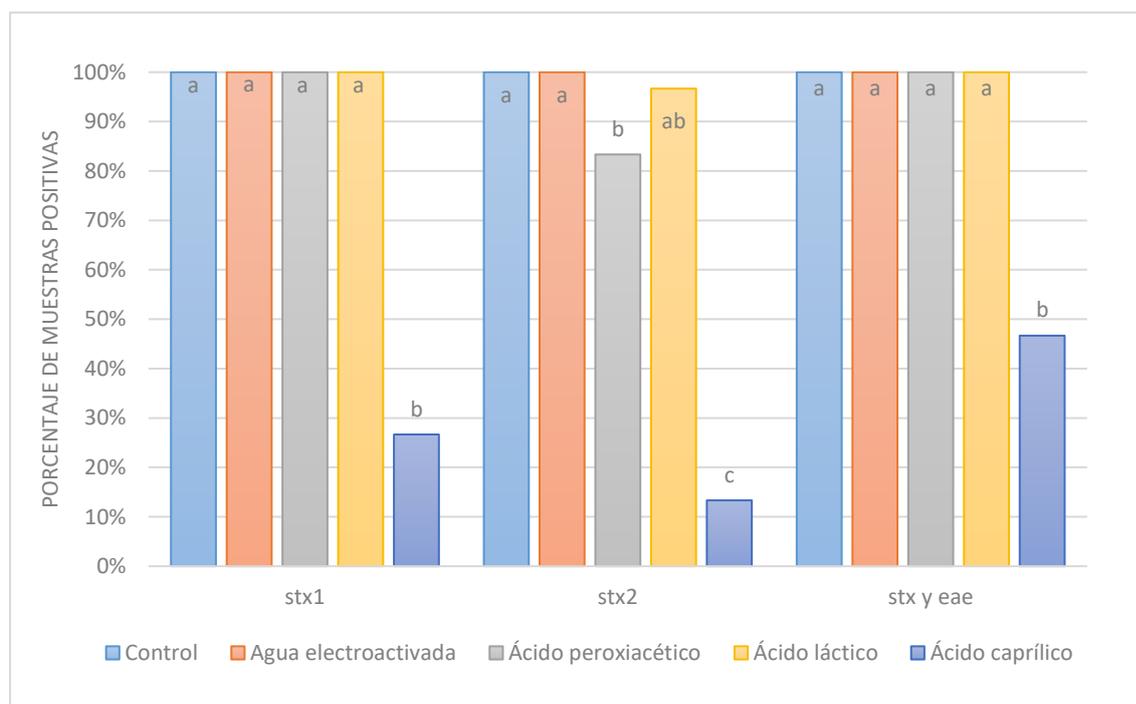
Con respecto al gen *stx*<sub>1</sub>, se observó que tanto en las muestras control como en aquellas tratadas con AE, AL e AP, el 100% de las muestras resultaron positivas para el gen luego del enriquecimiento, en tanto que con AC sólo fue del 27% (Gráfico 4.3).

Con relación al gen *stx*<sub>2</sub>, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras control (100%) y las muestras tratadas con AE (100%) ni con AL (97%). Las diferencias entre las muestras tratadas con AP (83%) respecto de las muestras control (100%) resultaron estadísticamente significativas; sin embargo, resultaron iguales a las muestras tratadas con AL. El AC fue el más efectivo (13%) ( $P < 0,05$ ) (Gráfico 4.3).

Con respecto al gen *eae*, se observó que el 100% de las muestras control y las tratadas con AE, AL e AP resultaron positivas para el gen luego del enriquecimiento. Con AC el 47% de las

muestras fueron positivas para el gen *eae* (Gráfico 4.3) ( $P < 0,05$ ). Sin embargo, sólo 7 también lo fueron para *stx*<sub>1</sub> o *stx*<sub>2</sub> lo que representa una reducción del 77% de las muestras positivas para *stx* y *eae*.

Gráfico 4.3. Porcentaje de las muestras de músculo *Semitendinosus* positivas para los genes *stx*<sub>1</sub>, *stx*<sub>2</sub> y *eae* luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL) y ácido peroxiacético (AP).

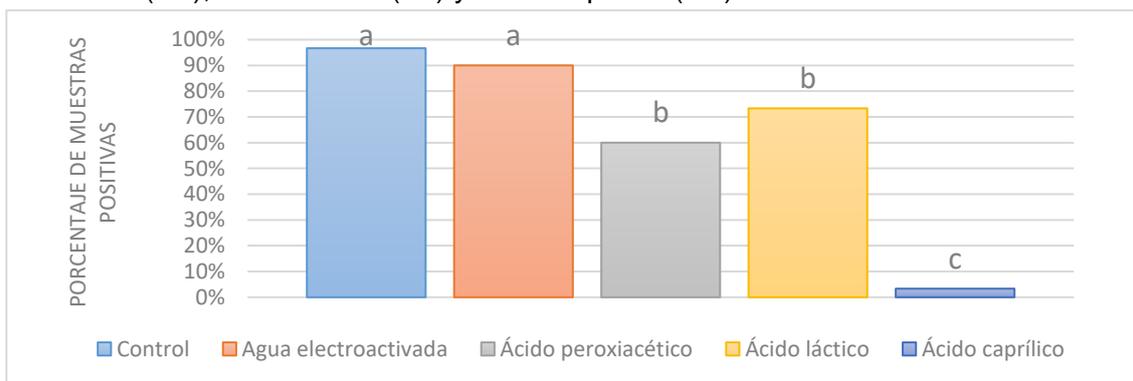


Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

A continuación, se muestran los porcentajes de muestras positivas para los marcadores moleculares de O157, O103, O111, O145 y O26 luego de 24 h de aplicada cada intervención y tras un enriquecimiento en TSBm durante 24 h a 42°C.

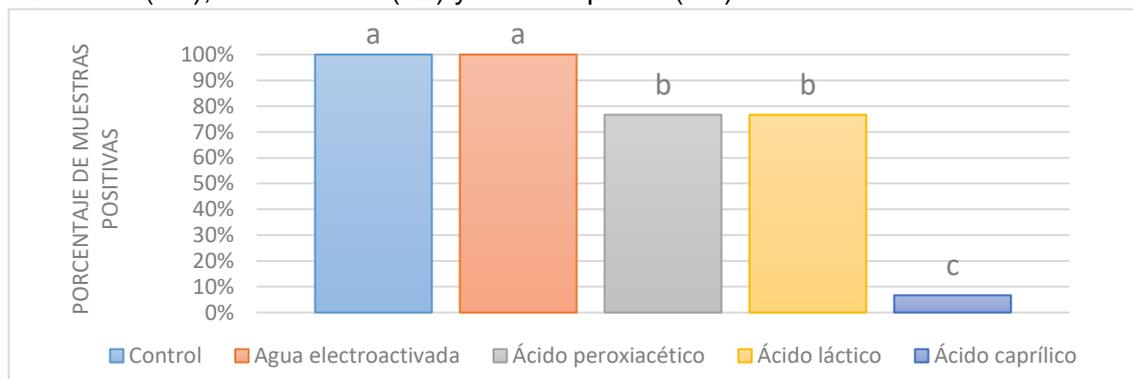
Respecto a los marcadores O157, O103, O111 y O145 no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras tratadas con AE y las muestras control. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras tratadas con AP, AL y AC respecto del control. Sin embargo, entre AL e AP no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. El tratamiento con AC fue el más efectivo y estadísticamente diferente a todos los demás (Gráfico 4.4-4.7).

Gráfico 4.4. Porcentaje de las muestras de músculo *Semitendinosus* positivas para el marcador molecular de O157 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC).



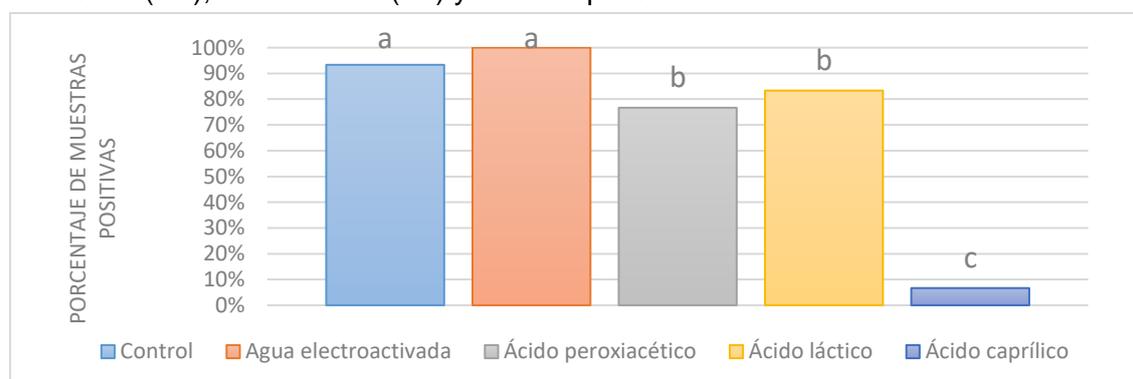
Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

Gráfico 4.5. Porcentaje de las muestras de músculo *Semitendinosus* positivas para el marcador molecular de O103 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC).



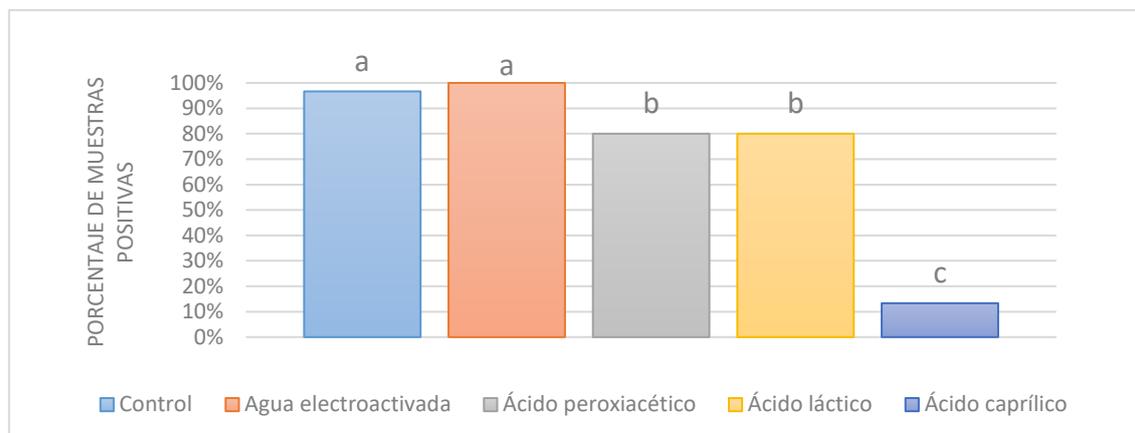
Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

Gráfico 4.6. Porcentaje de las muestras de músculo *Semitendinosus* positivas para el marcador molecular de O111 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico.



Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

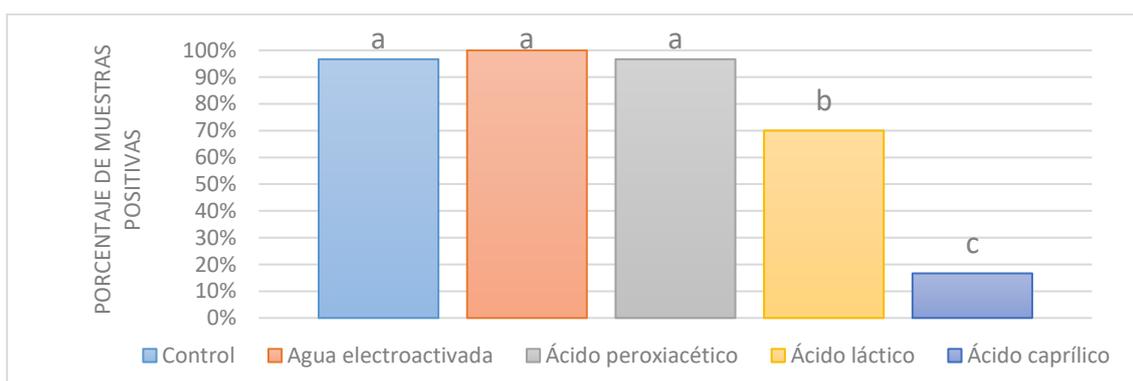
Gráfico 4.7. Porcentaje de las muestras de músculo *Semitendinosus* positivas para el marcador molecular de O145 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC).



Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

En relación al marcador molecular O26, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras tratadas con AE e AP y las muestras control. El porcentaje de muestras positivas para O26 en las muestras tratadas con AL fue del 70% ( $P<0,05$ ). Nuevamente, el mejor tratamiento fue AC con el cual se observó una prevalencia del 17% (Gráfico 4.8).

Gráfico 4.8. Porcentaje de las muestras de músculo *Semitendinosus* positivas para el marcador molecular de O26 luego del tratamiento con agua electroactivada (AE), ácido peroxiacético (AP), ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC).



Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

#### 4.3.4 Efectos sobre los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales

Los dos tratamientos más efectivos en la reducción de STEC fueron el correspondiente a AC y AL, por lo que éstos fueron seleccionados para evaluar sus efectos sobre los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales.

#### 4.3.4.1 pH

Las muestras control crudas presentaron un valor promedio de pH de 5,82. Las muestras crudas tratadas con AC presentaron un valor promedio de 5,64 y las muestras crudas tratadas con AL presentaron un valor promedio de 5,58; los tres resultaron estadísticamente diferentes entre sí ( $P < 0,05$ ). Las muestras control cocidas presentaron un valor promedio de pH de 6,07; las muestras tratadas con AC y cocidas presentaron un valor promedio de 5,91 y las muestras tratadas con AL y cocidas presentaron un valor promedio de 5,89; éste último fue estadísticamente diferente al promedio observado para las muestras control ( $P < 0,05$ ) (Tabla 4.5).

#### 4.3.4.2 Parámetros cromáticos

Dada la variabilidad inherente a la materia prima cruda en términos de los parámetros cromáticos, se procedió a comparar los mismos antes y después del tratamiento. Como era de esperar, luego de tratar con agua de red no se hallaron diferencias estadísticamente significativas en las muestras crudas control para ninguno de los parámetros analizados ( $P > 0,05$ ). Las muestras crudas tratadas con AL sólo se diferenciaron en el parámetro  $L^*$  que resultó ser menor que en las muestras sin tratar ( $P < 0,05$ ). En las muestras crudas tratadas con AC comparadas con las muestras sin tratar se observó un blanqueamiento, con menor intensidad de color y pigmentación rojiza ( $>L^*$ ,  $<a^*$  y  $<C^*$ ) ( $P < 0,05$ ) (Tabla 4.4).

Con relación a las muestras cocidas, no se hallaron diferencias entre las muestras tratadas con AL y las muestras control para ninguno de los parámetros analizadas ( $P > 0,05$ ). Las muestras cocidas tratadas con AC presentaron un color menos rojizo ( $<a^*$ ), menos amarillento ( $<b^*$ ) y con menos saturación ( $<C^*$ ) pero con igual ángulo hue ( $>h^\circ$ ) y luminosidad ( $=L^*$ ) que las cocidas control ( $P < 0,05$ ) (Tabla 4.5).

Tabla 4.4. Parámetros cromáticos de los músculos *Semitendinosus* crudos antes y después del tratamiento con ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC).

<b>Control (agua de red)</b>		
	Antes del tratamiento	Después del tratamiento
<b>L*</b>	45,76 (4,69) a	46,97 (4,19) a
<b>a*</b>	22,73 (3,50) a	24,78 (4,32) a
<b>b*</b>	8,67 (2,28) a	8,22 (2,98) a
<b>C*</b>	30,44 (3,90) a	26,18 (4,93) a
<b>h°</b>	18,79 (3,44) a	17,99 (4,11) a
<b>AL</b>		
	Antes del tratamiento	Después del tratamiento
<b>L*</b>	41,42 (2,55) a	43,63 (2,35) b
<b>a*</b>	24,27 (2,69) a	24,41 (2,51) a
<b>b*</b>	7,27 (1,94) a	7,88 (1,80) a
<b>C*</b>	25,37 (3,04) a	25,68 (2,89) a
<b>h°</b>	16,46 (2,97) a	17,71 (2,38) a
<b>AC</b>		
	Antes del tratamiento	Después del tratamiento
<b>L*</b>	42,75 (2,66) a	47,99 (3,29) b
<b>a*</b>	24,76 (2,51) b	21,11 (2,87) a
<b>b*</b>	7,16 (1,86) a	6,48 (2,15) a
<b>C*</b>	25,80 (2,86) b	22,13 (3,31) a
<b>h°</b>	15,90 (4,03) a	16,65 (3,12) a

Las medias con letras diferentes dentro de la misma fila representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

#### 4.3.4.3 Pérdida de peso por cocción (PPC)

La PPC promedio fue del 17,2%, sin diferencias significativas entre los tratamientos y entre los tratamientos y el control ( $P>0,05$ ) (Tabla 4.5).

#### 4.3.4.4 Resistencia al corte (N)

La resistencia de corte máxima (N) promedio fue de 34,37, sin diferencias significativas entre los tratamientos y entre los tratamientos y el control ( $P>0,05$ ) (Tabla 4.5).

Tabla 4.5. Parámetros de calidad de los músculos *Semitendinosus* cocidos control y tratados con ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC).

	<b>Control</b>	<b>AL</b>	<b>AC</b>
<b>pH crudo</b>	5,82 (0,05) a	5,58 (0,00) c	5,64 (0,03) b
<b>pH cocido</b>	6,07 (0,05) a	5,89 (0,03) b	5,91 (0,03) ab
<b>L* cocido</b>	52,22 (4,11) a	50,29 (3,44) a	50,13 (3,83) a
<b>a* cocido</b>	13,81 (1,75) a	13,31 (1,34) ab	12,80 (1,46) b
<b>b* cocido</b>	13,55 (0,82) ab	13,60 (0,83) a	12,85 (1,03) b
<b>C* cocido</b>	19,31 (1,39) a	19,06 (1,09) ab	18,19 (0,99) b
<b>h° cocido</b>	44,86 (4,03) a	45,44 (3,39) a	45,20 (4,67) a
<b>PPC (%)</b>	17,93 (1,66) a	17,34 (1,39) a	16,46 (1,13) a
<b>N</b>	34,64 (4,29) a	34,91 (3,20) a	37,55 (2,58) a

PPC: pérdida de peso por cocción; N: resistencia de corte máxima (N)

Los resultados se expresan como promedios (desvío estándar)

Las medias con letras diferentes dentro de la misma fila representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

#### 4.3.4.5 Evaluación visual de color

En los resultados de la prueba de color se observó que la variación entre las muestras control 1 y 2 fue mayor que los efectos de los tratamientos, reflejando la variabilidad inherente al producto (Tabla 4.6). En situaciones como estas, donde esta variación es mayor que los efectos de los tratamientos bajo estudio, no es posible establecer diferencias significativas. Se señala que fueron descartados del análisis las respuestas de aquellos evaluadores que calificaron al control ciego (C2) con más de 2 puntos de diferencia con respecto a la referencia (C1) o si calificaron a las muestras tratadas como “menos diferentes” que lo que calificaron al control ciego.

#### 4.3.4.6 Evaluación de diferencias globales de flavor

En la Tabla 4.6 se muestran los resultados obtenidos en la prueba de evaluación de flavor. La muestra tratada con AL se diferenció de la muestra de referencia en cuanto al flavor general ( $P<0,05$ ), mientras que no se hallaron diferencias significativas de flavor entre la muestra tratada con AC y la muestra de referencia. La diferencia de flavor obtenida para la muestra tratada con AL con respecto a la muestra de referencia fue de 1,5 (“diferencia muy pequeña” a “diferencia pequeña”). Los descriptores utilizados por los evaluadores entrenados para caracterizar a la muestra tratada con AL respondieron a la percepción de un off flavor y aquellos fueron cartón, aceituna, oliva, pescado y flavor muy fuerte a cerdo.

Tabla 4.6. Resultados de la evaluación visual de color y de las diferencias globales de flavor de los músculos *Semitendinosus* tratados con ácido láctico (AL) y ácido caprílico (AC).

	Color				Flavor general			
	C 1	C 2	AL	AC	C 1	C 2	AL	AC
<b>Promedio de las muestras*</b>	1,56	5,02	3,55	2,10	1,31	2,06	3,18	2,37
<b>Promedio de C1 y C2**</b>	3,28				1,68			
<b>Δ</b>			0,26	-2,17 <sup>1</sup>			1,5 <sup>2</sup>	0,68

C1 control ciego del mismo músculo que la referencia; C2 control ciego de un músculo diferente.

\*basado en 17 evaluaciones con un replicado para color y 8 evaluaciones con un replicado para flavor.

\*\* $(C1+C2)/2$

Δ calculado como el promedio de la muestra menos el promedio de los controles.

<sup>1</sup>Una diferencia negativa implica que los efectos del tratamiento son menores a la variabilidad entre diferentes músculos (variabilidad entre controles) Se declara que no existen diferencias significativas.

<sup>2</sup>La prueba de Dunnett arrojó diferencias significativas en el flavor general de las muestras tratadas con AL con respecto al flavor de las muestras de referencia ( $P<0,05$ ).

## 4.4 Discusión

La efectividad del tratamiento en muestras con alta concentración de STEC se evaluó a través de la técnica recuento en placa. La misma, al igual que cualquier otra técnica, tiene sus limitaciones ya que el desarrollo bacteriano depende de muchos factores que incluyen el estado fisiológico de la célula, el medio de cultivo utilizado, el tiempo y temperatura de incubación y, el número de células presente (Montville y Matthews, 2007). Para cuantificar células viables se utilizó un medio no selectivo (agar Tripticasa Soja) y un medio selectivo (agar MacConkey) dado que se ha demostrado que la capacidad de desarrollo de bacterias expuestas a un estrés subletal en medios selectivos es menor a la observada en medios no selectivos. Muchos autores, entre los que nos incluimos, asumimos que dicha diferencia puede ser interpretada como el número de células injuriadas y que la diferencia entre los recuentos en medio no selectivo de las muestras que no fueron expuestas al estrés y las muestras que sí estuvieron expuestas, puede ser interpretada como en número de bacterias letalmente dañadas luego del estrés (Bull, 2005; Gracia, 2004; Kobayashi, 2005; Ngutter y Donnelly, 2003).

Otro punto a considerar es que las muestras no eran estériles. Al analizar la superficie de cada corte se recontaron entre 1,2 y 2 log UFC/cm<sup>2</sup>. Independientemente de ese recuento, el cual es muy bajo, la preparación de la muestra se hizo respetando las buenas prácticas de manufactura, y excluyendo la superficie del corte. Por ende, asumimos que el aporte de la microbiota de la carne al recuento de colonias fue insignificante tanto en el medio no selectivo como selectivo. Tomando en consideración lo antedicho y basado en los resultados del presente capítulo, el AE no resultó efectiva para reducir STEC ni en las muestras con alta concentración de inóculo ni en las muestras con baja concentración. Este resultado coincide con lo informado por Signorini y col., (2018), quienes evaluaron el efecto del AE en carcasas bovinas y no observaron diferencias significativas entre los recuentos bacteriológicos de las muestras tratados con AE y los correspondientes a las muestras control. Los resultados también coinciden con aquellos informados por Kalchayanand y col., (2008) quienes demostraron que el AE aplicada en cabinas de lavado sobre cabezas bovinas no fue efectivo para reducir *E. coli* O157:H7. Contrariamente, Ding y col. (2010) informaron que tras los tratamientos con AE ácida y ligeramente ácida durante 3 min se observaron reducciones de 1,64 y 1,72 log UFC/g en los recuentos de STEC inoculados artificialmente en cortes de carne vacuna. Las diferencias entre los resultados de Ding y col., (2010) y los obtenidos en este trabajo podrían explicarse por el tipo de AE utilizado (ácida y ligeramente ácida vs neutra) y el tiempo de contacto (3 min vs 15 s).

En las muestras con alta concentración de inóculo tratadas con AP se observó una letalidad de 0,21 log UFC/g y una injuria de 0,41 log UFC/g. Algunos autores describieron que el AP no

resultaba efectivo para reducir poblaciones bacterianas mientras que otros informaron reducciones de por lo menos 1 log UFC/g (Kalchayanand y col., 2012; King y col., 2005; Mohan y Pohlman, 2016; Ransom y col., 2003; Signorini y col., 2018). Kalchayanand y col., (2012) evaluaron el mismo producto comercial utilizado en el presente ensayo (INSPEXX200) a la misma concentración, y las reducciones observadas fueron de 0,9 a 1,5 log UFC/g según el serogrupo de STEC analizado. Ransom y col., (2003) evaluaron una solución de 0,02% de AP (Birko Corporation, EE.UU.) e informaron una reducción de 1,4 log UFC/g en la población de *E. coli* O157:H7. No obstante, vale la pena mencionar que los autores citados calcularon la letalidad como la diferencia entre el recuento de MAC de las muestras inoculadas sin tratar y el recuento de MAC de las muestras tratadas, mientras que en el presente estudio se calculó como la diferencia entre el recuento de TSA de las muestras inoculadas tratadas con agua y el recuento de TSA de las muestras tratadas. Es decir, que los autores no tomaron en cuenta la reducción causada por el efecto mecánico del agua y sólo contemplaron el recuento de células en medios selectivos excluyendo a las bacterias que pudieron haber resultado injuriadas. En el trabajo de Ransom y col., (2003) se informa que el recuento de las muestras inoculadas sin tratar fue de 6,4 log UFC/g, el recuento en TSA de las muestras inoculadas y tratadas con agua fue de 4,8 log UFC/g, mismo valor al informado para las muestras tratadas con AP. Por ende, bajo el criterio de letalidad utilizado en el presente trabajo, el AP evaluado en el trabajo de Ransom y col., (2003) no resultó efectivo para reducir la población de STEC. En las muestras con baja concentración de inóculo tratadas con AP, no hubo reducción en el porcentaje de muestras positivas para STEC (muestras positivas para *stx* y *eae*). En cuanto a las muestras positivas para O103, O111, O145 y O157 se observó una reducción entre el 20 y el 40%. Para el serogrupo O26 no se observó reducción, una posible explicación es que la cepa O26 analizada era más resistente al tratamiento que el resto de las cepas analizadas. Otro tipo de ensayo se debe realizar con el objeto de confirmar o descartar esta hipótesis. En las muestras con alta concentración de inóculo tratadas con AL se observó una letalidad de 0,34 log UFC/g y una injuria de 0,27 log UFC/g. Otros autores evaluaron la efectividad de AL con resultados muy variados. Por un lado, Harris y col., (2012) informaron que luego de tratar de recortes de carne vacuna con AL al 2 y al 5%, no se registraron reducciones significativas en el recuento de *E. coli*. Por el otro lado, Kalchayanand y col., (2012) informaron que luego de tratar un corte de carne fresca con AL al 4% registraron reducciones en el recuento de STEC entre 1,6 y 3,1 log UFC/g, dependiendo del serogrupo analizado. Asimismo, Ransom y col., (2003) informaron que luego de tratar carcasas bovinas con AL al 2% registraron una reducción en el recuento de *E. coli* de 3,3 log UFC/g. Sin embargo, al igual que lo que se describió para AP los autores citados estimaron las reducciones logarítmicas a partir de los recuentos en MAC y de muestras inoculadas sin tratar. En el trabajo de Ransom y col., (2003) se informa que el recuento de las muestras inoculadas sin tratar fue de 6,4 log

UFC/g, el recuento en TSA de las muestras inoculadas y tratadas con agua fue de 4,8 log UFC/g y el recuento en TSA de las muestras tratadas con AL fue de 3,7 log UFC/g. Por ende, bajo el criterio de letalidad utilizado en el presente trabajo, el AL evaluado en el trabajo de Ransom y col., (2003) redujo 1,1 log UFC/g la población de *E. coli*. La diferencia entre el resultado de letalidad (0,34 log UFC/g) obtenido en el presente estudio y el resultado de Ransom y col., (2003) podría ser explicado por la naturaleza de las cepas utilizadas en cada caso (*E. coli* no patogénica vs STEC), el tipo de matriz estudiada (carcasas vs corte fresco) y el sistema de aplicación del tratamiento (aspersión vs inmersión).

En las muestras con baja concentración de inóculo tratadas con AL, no hubo reducción en el porcentaje de muestras positivas para los genes *stx* y *eae*, es decir, el 100% de las muestras resultaron positivas para los genes *stx* y *eae* luego del tratamiento. La falta de eficacia pudo deberse a que la letalidad alcanzada con el tratamiento de AL no fue suficiente para inactivar la totalidad de bacterias inoculadas y/o que tras el tratamiento las bacterias con mayor resistencia sólo resultaron injuriadas y durante el enriquecimiento fueron capaces de recuperarse y tornarse detectables por PCR-TR. Con respecto a los marcadores moleculares de serogrupo se observó una reducción entre el 20 y el 30% de muestras positivas para O157, O103, O111, O145 y O26, lo que significa que algunas de las bacterias inoculadas sufrieron un daño irreparable y por ende no fueron capaces de recuperarse y tornarse detectables por PCR-TR. Kalchayanand y col., (2012) también evaluaron la efectividad de AL con muestras de carne fresca inoculadas con baja concentración de inóculo de STEC ( $10^1$  UFC/ml). En este caso, las muestras fueron tratadas con AL 4%, enriquecidas, sometidas a separación inmunomagnética y sembradas en agar cromogénico. Los porcentajes de recuperación estuvieron entre el 13 y el 35%, según el serogrupo analizado. La efectividad informada por Kalchayanand y col., (2012) fue muy superior a la observada en el presente ensayo, sin embargo, resulta difícil comparar los resultados ya que el porcentaje de AL fue mayor y la técnica de detección fue distinta.

Con relación al AC, lo primero que se hizo fue comparar los recuentos de las muestras tratadas con AC con los recuentos observados para las muestras tratadas con etanol 95%. Lo que se observó fue que el etanol al 95% no aportó al efecto bactericida de la solución de AC-etanol. Este resultado coincide con lo informado por Choi y col., (2013) y Kim y Rhee, (2015). De todos los tratamientos analizados el AC fue el más efectivo. En las muestras con alta concentración de inóculo se observó con una letalidad de 0,82 log UFC/g y una injuria de 0,38 log UFC/g. En las muestras con baja concentración de inóculo se observó reducción del 77% en el porcentaje de muestras positivas para STEC y redujo entre el 83 y el 97 % el porcentaje de muestras positivas para los serogrupos analizados (O26, O103, O111, O145 y O157). Su efectividad ya había sido demostrada contra *Cronobacter sakazakii* y *Salmonella* Typhimurium en fórmula infantil y contra *E. coli* O157:H7 en jugo de zanahoria, recortes de carne vacuna y

cuero vacuno (Baskaran y col., 2013; Choi y col., 2013; Kim y Rhee, 2015; Mohan y col., 2016). Mohan y col., (2016) evaluaron la efectividad de sumergir durante 15 s recortes de carne vacuna inoculados con *E. coli* O157:H7 en una solución de AC al 3% e informaron una reducción 4,8 log UFC/g. Baskaran y col., (2013) evaluaron la efectividad de tres soluciones: AC 1%, ácido  $\beta$ -resorcilico al 1% y una solución que resultó de la combinación de los dos anteriores sobre los recuentos de *E. coli* O157:H7 en cuero bovino. Los autores informaron que las 3 soluciones fueron efectivas y las reducciones observadas fueron entre 3 y 4 log UFC/g. Las diferencias observadas entre los trabajos citados y el presente trabajo podrían ser explicadas por la variación de resistencia entre las cepas analizadas, las diferencias entre las matrices evaluadas (recortes – cuero vs corte entero) y por las diferencias en las condiciones de ensayo aplicadas en cada caso.

Con respecto a los efectos sobre los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales del músculo entero, el tratamiento con AL no afectó ningún parámetro fisicoquímico, pero sí el sabor del producto. Los panelistas remarcaron la presencia de sabores desagradables (off-flavors) que fueron descritos como cartón, aceituna, oliva, pescado y flavor muy fuerte a cerdo. El AC sólo afectó los parámetros cromáticos de las muestras crudas en las cuales se observó un blanqueamiento, con menor intensidad de color y pigmentación rojiza mientras que en las muestras cocidas se observó un color menos rojizo, menos amarillento y con menos saturación. Sin embargo, estas diferencias no fueron identificadas en la evaluación visual de color. El resto de los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales evaluados no se vieron afectados por los tratamientos.

## 4.5 Conclusiones

Los resultados obtenidos para las muestras con alta concentración de inóculo demostraron que el tratamiento más efectivo fue el de AC con una letalidad de 0,82 log UFC/g y una injuria de 0,38 log UFC/g. El segundo tratamiento más efectivo fue el AL con una letalidad de 0,34 log UFC/g y una injuria de 0,27 log UFC/g seguido por AP con una letalidad de 0,21 log UFC/g y una injuria de 0,41 log UFC/g. El AE no demostró efectividad alguna para reducir la presencia de STEC en cortes de carne bovina.

Los resultados obtenidos para las muestras con baja concentración de inóculo demostraron que el único tratamiento efectivo fue el de AC con una reducción en el porcentaje de muestras positivas para los genes *stx* y *eae* del 77%. En las muestras tratadas con AL, AP y AE no se observó reducción alguna. Estos resultados probablemente estén asociados con la metodología de análisis utilizado. Las muestras con alta concentración de inóculo fueron analizadas por recuento en placa mientras que las muestras con baja concentración de

inóculo fueron enriquecidas durante 24 h y luego analizadas por PCR-TR. Se puede concluir que la letalidad alcanzada por los tratamientos con AL y AP no resultó suficiente para inactivar la totalidad de bacterias que fueron inoculadas y que el paso de enriquecimiento brindó a las bacterias injuriadas la oportunidad de reparar los daños causados por los tratamientos, multiplicarse y tornarse detectables.

Con respecto a los efectos sobre los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales del corte de carne entero, el tratamiento con AL afectó el sabor y el tratamiento con AC los parámetros cromáticos del producto. Sin embargo, las diferencias de color observadas instrumentalmente en las muestras tratadas con AC no fueron identificadas en la evaluación visual de color por parte del panel.

---

**5 Capítulo 2 – Evaluación de intervenciones tendientes a reducir la presencia de STEC en recortes de carne bovina.**

---

## 5.1 Objetivos específicos

- Evaluar la efectividad de ácido láctico, ácido caprílico, irradiación con baja dosis e irradiación con dosis moderada como tratamientos individuales y la irradiación con baja dosis combinada con ácido láctico o con ácido caprílico como estrategias de intervención tendientes a reducir la presencia de STEC en recortes de carne bovina (materia prima para la preparación de hamburguesas).
- Evaluar el efecto de las 2 intervenciones con mayor efectividad, seleccionadas en el objetivo anterior, sobre las propiedades fisicoquímicas y los atributos sensoriales de recortes de carne bovina.

## 5.2 Materiales y métodos

### 5.2.1 Diseño experimental

Se realizaron 3 ensayos. En el ensayo 1, se evaluó la efectividad de los tratamientos en muestras inoculadas con una alta concentración de STEC. En el ensayo 2, se evaluó la efectividad de los tratamientos en muestras inoculadas con una baja concentración de STEC. En el ensayo 3, se evaluaron los efectos de los tratamientos más efectivos sobre los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales de hamburguesas preparadas con los recortes de carne vacuna tratados. Para los ensayos 1 y 2 se realizó un diseño completamente aleatorizado en el que se utilizaron 30 réplicas (bolsas con 25 g de recortes) para cada tratamiento y 30 muestras control. Cada tratamiento se realizó 6 veces. El tamaño de la muestra fue suficiente para detectar una reducción en la carga de 0,8 log con una desviación standard de 1 (con un 95.0% como intervalo de confianza, IC) en las muestras con alta concentración de inóculo y una reducción en la prevalencia del 20% (95% IC) en muestras con baja concentración de inóculo. Para el ensayo 3 se realizó un diseño completamente aleatorizado en el que se utilizaron 3 hamburguesas por cada tratamiento y 3 hamburguesas como control.

### 5.2.2 Materia prima

La materia prima correspondió a 4 bolsas de 10 Kg de recortes de carne bovina. Las mismas fueron adquiridas en un frigorífico habilitado para exportación a la UE y fueron trasladada congeladas al Centro Atómico Ezeiza perteneciente a la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA).

### 5.2.3 Control de materia prima

Las bolsas correspondientes al ensayo 1 y 2 se descongelaron a temperatura de refrigeración ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y fueron irradiadas con 20 kGy con el objeto de eliminar la microbiota natural. La irradiación se realizó en la Planta de Irradiación Gamma Semi-industrial del Centro Atómico Ezeiza de CNEA, cuya fuente es de Cobalto 60, en condiciones de refrigeración (actividad, 820 kCi; temperatura,  $12 \pm 0.5^\circ\text{C}$ ; tasa de dosis promedio, 8.7 kGy/h; uniformidad de dosis promedio, 1.05 kGy). Para medir la dosis absorbida se usaron dosímetros de alanina BioMax<sup>TM</sup> (Kodak, EE.UU.), y un equipo de resonancia paramagnética electrónica (E-scan, Bruker BioSpin, Corp., EE.UU.). La curva de calibración fue provista y trazable al Laboratorio de referencia NIST (National Institute of Standards and Technology, EE.UU.).

### 5.2.4 Preparación de las muestras

Las bolsas del ensayo 1 y 2 se fraccionaron en bolsas estériles (Whirl-Pak Nasco, EE.UU.) con 25 g de muestra cada una (Ilustración 5.9). Las bolsas del ensayo 3 se mantuvieron congeladas hasta el día de su procesamiento para lo cual se descongelaron a temperatura de refrigeración ( $4 \pm 1^\circ\text{C}$ ) y se fraccionaron en 4 bolsas con 2,5 kg cada una.

Ilustración 5.9. Preparación de muestras de recortes de carne vacuna (ensayo 1 y 2).



### **5.2.5 Cepas bacterianas y preparación del inóculo**

Las cepas y la preparación de inóculo se describieron en el capítulo 1 (ítem 4.2.5).

### **5.2.6 Inoculación de la muestra**

Se inoculó un volumen suficiente para obtener una concentración final baja, de  $10^1$  UFC/g, y una concentración final alta, de  $10^5$  UFC/g del coctel de cepas STEC. Las muestras se masajearon presionando la bolsa externamente para garantizar la distribución homogénea de las bacterias. Se incluyeron muestras inoculadas sin tratar como control.

### **5.2.7 Aplicación de intervenciones**

#### 5.2.7.1 Tratamientos químicos

Los tratamientos se aplicaron en las muestras ya inoculadas. Para el tratamiento con AL, se incorporó un volumen suficiente de producto de pureza 85% (ADAMA, Argentina) para alcanzar una concentración final en producto de 0,5%. Para el tratamiento con AC, se incorporó un volumen suficiente de producto de pureza 99% (Sigma-Aldrich, Alemania) para alcanzar una concentración final en producto de 0,04%. Las bolsas fueron masajeadas externamente para garantizar la distribución homogénea del producto.

#### 5.2.7.2 Tratamiento físico

Se aplicaron 2 dosis de irradiación gamma: 0,5 (baja dosis de irradiación, BDI) y 2 kGy (alta dosis de irradiación, ADI). Los tratamientos se realizaron en la Planta de Irradiación Gamma Semi-Industrial del Centro Atómico Ezeiza de CNEA, cuya fuente es de Cobalto 60, en condiciones de refrigeración (actividad, 820 kCi; temperatura,  $12 \pm 0.5$  °C; tasa de dosis promedio, 8.7 kGy/h; uniformidad de dosis promedio, 1.05 kGy). Para medir la dosis absorbida se usaron dosímetros de alanina BioMax™ (Kodak, EE.UU.), y un equipo de resonancia paramagnética electrónica (E-scan, Bruker BioSpin, Corp., EE.UU.). La curva de calibración fue provista y trazable al Laboratorio de referencia NIST (*National Institute of Standards and Technology*, EE.UU.).

### **5.2.8 Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una alta concentración de cepas STEC**

Ídem 4.2.8

### **5.2.9 Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una baja concentración de cepas STEC**

Ídem 4.2.9

### **5.2.10 Evaluación de propiedades fisicoquímicos y atributos sensoriales.**

#### 5.2.10.1 Preparación de hamburguesas

Dado que los recortes no son consumidos como tal, se prepararon hamburguesas utilizando como materia prima los recortes tratados y sin tratar (control). La preparación se realizó según el procedimiento descrito en Szerman y col., (2019). La fórmula utilizada fue: 90% carne y grasa; 2% NaCl; 0,25% Tripolifosfato de Sodio y 7,75% de agua. La grasa total fue de  $11,8 \pm 0,8\%$ . Las mismas se prepararon en el Área de Procesamiento de Alimentos del Instituto Tecnología de Alimentos, INTA Castelar (Ilustración 5.10). Finalizada la preparación las hamburguesas se congelaron a  $-18 \pm 1^\circ\text{C}$ .

Ilustración 5.10. Preparación de hamburguesas a partir de recortes tratados y sin tratar.



#### 5.2.10.2 Medición del pH

Ídem 4.2.10.2. Con la salvedad de que en este caso se partió de una porción de 10g de muestra congelada y 90ml de agua destilada.

### 5.2.10.3 Parámetros cromáticos

Ídem 4.2.10.3. Las mediciones se realizaron por sextuplicado en una de las superficies de la muestra tanto congelada como cocida (muestra a 25°C, luego de la cocción).

### 5.2.10.4 Cocción de las muestras y pérdida de peso por cocción

La hamburguesa congelada, envuelta en papel aluminio, fue cocinada en plancha de doble contacto portátil (Spectrum Brands, modelo George Foreman, EE.UU.) a una temperatura promedio de 155°C. Cada hamburguesa se cocinó hasta alcanzar una temperatura interna final de  $74 \pm 0,1^\circ\text{C}$ , registrada mediante termocuplas tipo T insertas en el centro geométrico de la misma, utilizando un multímetro digital marca Fluke modelo 2620A Hydra Data Acquisition. Se registró el peso antes y después de la cocción a fin de evaluar la pérdida de peso por cocción, empleándose una balanza de precisión ( $\pm 0,05\text{g}$ ) (Sartorius, Argentina). La pérdida de peso se calculó como la diferencia entre el peso inicial y final en relación al peso inicial, expresándose como porcentaje.

### 5.2.10.5 Evaluación de resistencia y trabajo de corte

Se utilizó un texturómetro marca Stable MicroSystems modelo TA.XT plus (Surrey, Reino Unido), empleando una celda de Kramer de 10 cuchillas de acuerdo a las siguientes especificaciones: celda de carga: 50 Kg - tipo de Test: compresión - velocidad de pre test: 300 mm/s - velocidad del test: 199,8 mm/s - velocidad del post test: 600 mm/s - distancia: 50 mm y *trigger force*: 0,04903 N. De las muestras cocinadas y tras haber alcanzado una temperatura interna de  $25 \pm 0,2^\circ\text{C}$ , se procedió a obtener de cada muestra 4 rectángulos de 60 mm de largo, 15 mm de ancho y 10 mm de espesor. Cada uno de los rectángulos se sometió a la prueba de resistencia de corte, obteniéndose los siguientes parámetros: resistencia de corte máximo (N) y trabajo de corte (J - joule), obtenido a partir del área bajo la curva Fuerza vs Tiempo (s).

### 5.2.10.6 Oxidación lipídica

La oxidación lipídica se midió mediante el método del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) según la técnica descrita por Descalzo y col., (2005), con modificaciones. Una porción representativa de cada una de las muestras fue cortada en pequeños cubos y mezclada. Luego se pesaron 4 g de cada una de ellas y se colocó en una bolsa estéril (Whirl-Pak Nasco, EE.UU.). Se agregaron 10 ml de solución de ácido tricloroacético al 20% en ácido meta fosfórico al 1,6% y se colocaron en un homogeneizador (easy Mix, AES,

Francia) durante 2 min. Luego, se agregaron 10 ml de agua destilada y se homogeneizó por 30 s más. El homogenizado se filtró inmediatamente a través de un papel de filtro Whatman N° 1. El filtrado se colectó en probetas y cuando fue necesario se ajustó el volumen a 20 ml con agua destilada. A continuación, 2 ml se colocaron en tubos de ensayo (3 por cada muestra: blanco y duplicado del extracto), y se mantuvieron refrigerados hasta que se agregaron los 2 ml de solución recién preparada de TBA 0,02M en agua destilada. Los tubos se taparon y se colocaron en baño de agua a  $25\pm 2^\circ\text{C}$  en oscuridad toda la noche. El desarrollo de color se midió en un espectrofotómetro (Lambda Bio 20, Perkin Elmer, EE.UU.) a 530 nm. Se realizó una curva de calibración para cada ensayo utilizando como patrón una solución de TEP 10-3M (1,1,3,3-tetraetoxipropano). El número de TBARS se definió con los mg de malondialdehído por kg de tejido.

#### 5.2.10.7 Evaluación visual de color

Se evaluaron hamburguesas crudas congeladas cubiertas con envoltura de polietileno mediante una prueba de diferencia contra un control direccionada a color, utilizando un control ciego (Ilustración 5.11). Se utilizó una escala numérica con anclajes verbales. Número de respuestas esperadas: 40 (20 con una replicación) para lo cual se reclutaron consumidores (individuos no entrenados para evaluación de color). Las muestras se presentaron de a pares.

Ilustración 5.11. Presentación de las hamburguesas para la evaluación visual de color.



**R** – referencia o control, **535**: hamburguesas preparadas con recortes irradiados con baja dosis de irradiación, **294**: hamburguesas preparadas con recortes tratados con ácido láctico e irradiados con baja dosis de irradiación, **397**: hamburguesas preparadas con recortes irradiados con alta dosis de irradiación, **171**: *control ciego* (muestra control codificada).

### 5.2.10.8 Evaluación de diferencias globales de flavor

Para evaluar flavor se realizó una prueba triangular. Para ello, las hamburguesas se cocinaron enteras y congeladas en una plancha eléctrica según se describió en el ítem 5.2.10.4. El número de respuestas esperadas fue de: 40 (20 con una replicación) para lo cual se reclutaron 20 evaluadores entrenados. Cada evaluador recibió una planilla como la que se observa en la ilustración 5.12.

Ilustración 5.12. Planilla entregada a cada panelista para la diferencia global de flavor de las hamburguesas preparadas con recortes tratados y sin tratar.

Edad: _____	Género: M <input type="checkbox"/>	F <input type="checkbox"/>
<b>Prueba triángulo en hamburguesas</b>		
Usted recibirá series de 3 muestras de hamburguesa codificadas. Dos son idénticas y una distinta. Escriba los números de las muestras en el orden en el que las recibió. Pruébelas de izquierda a derecha y marque con una cruz la muestra diferente teniendo en cuenta el flavor. Si no percibe diferencias debe elegir una al azar.		
<b><u>Muestras</u></b>		
Orden recibido →	Nº _____	Nº _____
Muestra diferente →	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Comentarios sobre la muestra diferente: _____		

### 5.2.11 Análisis estadístico

En el ensayo 1, los recuentos de STEC (TSA y MAC) de todos los tratamientos fueron analizados utilizando ANOVA (control, AL, AC, BDI, BDI+AL, BDI+AC y ADI). Como prueba pos hoc se utilizó la prueba de comparación múltiple de Duncan.

En el ensayo 2, la presencia de los genes *stx* y *eae* y los marcadores moleculares O26, O103, O111, O145 y O157 de todos los tratamientos se compararon utilizando un modelo lineal generalizado. La ausencia o presencia de los genes *stx* y *eae* y los marcadores moleculares fueron las variables respuesta del modelo, utilizando una distribución binaria como función adjunta.

Los efectos sobre los parámetros fisicoquímicos fueron analizados utilizando ANOVA. Finalmente, para el análisis sensorial se realizó un análisis de varianza de dos factores (evaluador y tratamiento) para determinar diferencias significativas entre las muestras tratadas y la muestra referencia. Como prueba pos hoc se utilizó la prueba de comparación múltiple de Dunnett.

## 5.3 Resultados

### 5.3.1 Efectividad para reducir STEC en muestras inoculadas con una alta concentración

En la Tabla 5.7 se muestran los resultados obtenidos para las muestras con una concentración alta de inóculo expresados como promedios de log UFC/g del recuento en TSA y en MAC.

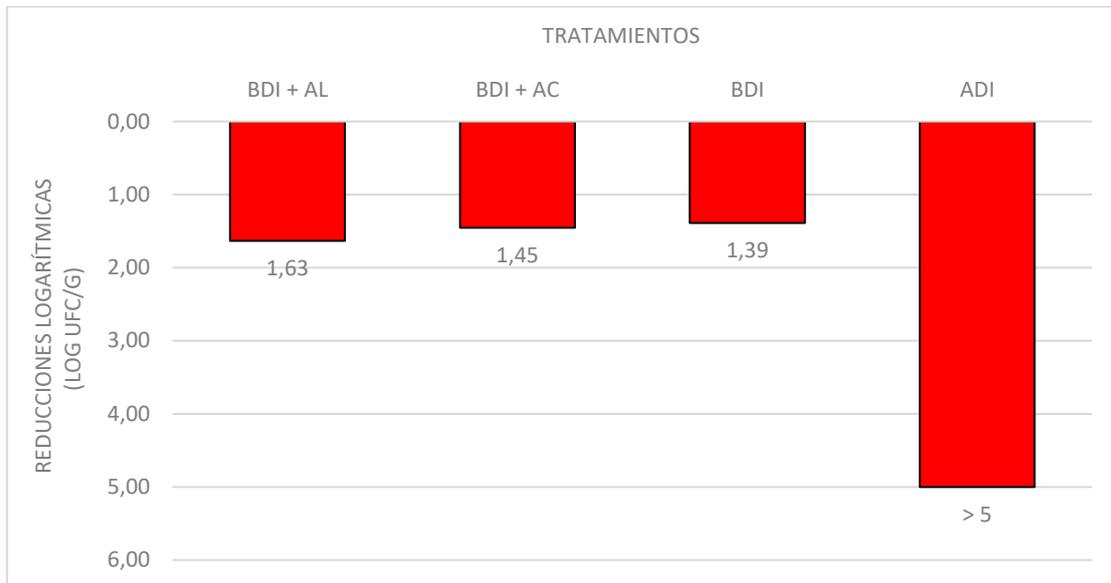
Tabla 5.7. Recuentos, expresados como el promedio de log UFC/g (desvío estándar), de STEC en muestras de recortes tratados con ácido láctico (AL), ácido caprílico (AC), baja dosis de irradiación (BDI), BDI+AL, BDI +AC y alta dosis de irradiación (ADI).

Tratamiento	Recuento en TSA (log UFC/g)	Recuento en MAC (log UFC/g)
<b>Control</b>	7,14 (0,11) a	6,56 (0,27) a
<b>AL</b>	7,01 (0,10) a	6,57 (0,31) a
<b>AC</b>	7,13 (0,26) a	6,75 (0,27) a
<b>BDI</b>	5,75 (0,34) b	5,40 (0,26) b
<b>BDI + AL</b>	5,46 (0,50) c	5,01 (0,58) c
<b>BDI + AC</b>	5,77 (0,29) b	5,43 (0,34) b
<b>ADI</b>	<2 d	<2 d

Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

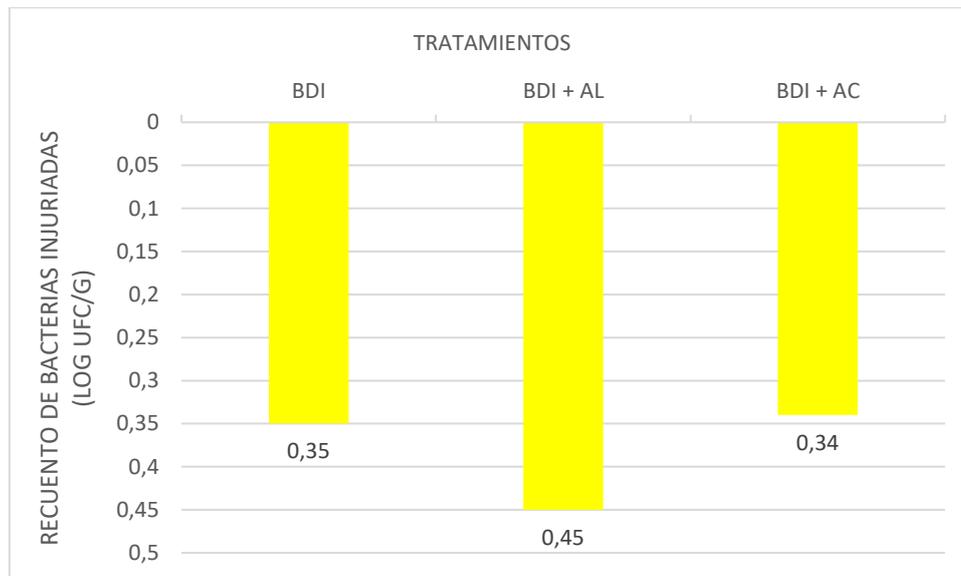
Tras el análisis estadístico se observó que el efecto tratamiento fue significativo con un nivel de confianza del 95% (ANOVA de 1 factor). Por lo cual, se aplicó el test de comparación de medias de Duncan para establecer las diferencias entre tratamientos. Referido a los recuentos en TSA, no se hallaron diferencias significativas entre las muestras tratadas con AC y AL con respecto a las muestras control, mientras que sí se observaron diferencias significativas entre las muestras irradiadas (BDI, BDI + AL, BDI + AC y ADI) respecto del control. En referencia a las diferencias entre los tratamientos de irradiación se observó que ADI fue el tratamiento más efectivo seguido por BDI + AL y luego por BDI sola y combinada con AC; estos últimos no difirieron estadísticamente entre sí. A continuación, se estimaron las reducciones logarítmicas en aquellos tratamientos que resultaron estadísticamente diferentes al control (Gráfico 5.9). Las mismas fueron: >5; 1,63; 1,45 y 1,39 log UFC/g para ADI, BDI + AL, BDI + AC y BDI, respectivamente.

Gráfico 5.9. Reducciones logarítmicas en muestras de recortes tratados con baja dosis de irradiación (BDI) + ácido láctico (AL), BDI + ácido caprílico (AC), BDI y alta dosis de irradiación (ADI).



Al analizar los recuentos en MAC no se hallaron diferencias significativas entre las muestras tratadas con AC y AL respecto de las muestras control, mientras que sí se observaron diferencias significativas entre las muestras irradiadas (BDI, BDI + AL, BDI + AC y ADI) y el control. Con relación a las diferencias entre tratamientos, nuevamente el tratamiento ADI fue el más efectivo seguido por BDI + AL y BDI sola y combinada con AC; entre estos últimos no se observaron diferencias estadísticamente significativas. Se estimó el recuento de bacterias injuriadas luego de cada intervención. Sin embargo, los resultados no resultaron concluyentes ya que el mayor grado de injuria se observó en las muestras control (Gráfico 5.10).

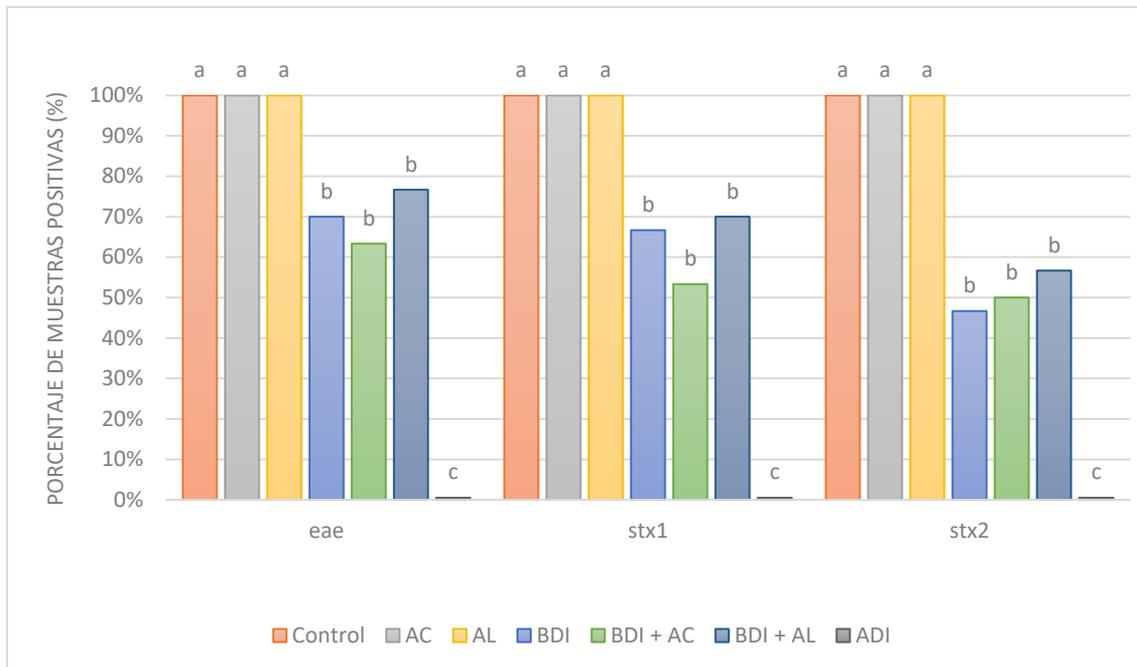
Gráfico 5.10. Número de bacterias injuriadas en muestras de recortes tratados con baja dosis de irradiación (BDI), BDI + AL, BDI + AC.



### 5.3.2 Efectividad para reducir STEC en muestras inoculadas con una baja concentración

El tratamiento más efectivo fue el de ADI ya que ninguna muestra fue positiva para los genes analizados. En promedio el 70% de las muestras tratadas con BDI, BDI + AL y BDI + AC resultaron positivas para el gen *eae* y uno o ambos genes *stx*. Estos tratamientos fueron estadísticamente diferentes de la muestra control, pero iguales entre sí. Los tratamientos ácidos no resultaron efectivos ya que el 100 % de las muestras tratadas con AC y con AL fueron positivas para el gen *eae* y uno o ambos genes *stx* (Gráfico 5.11).

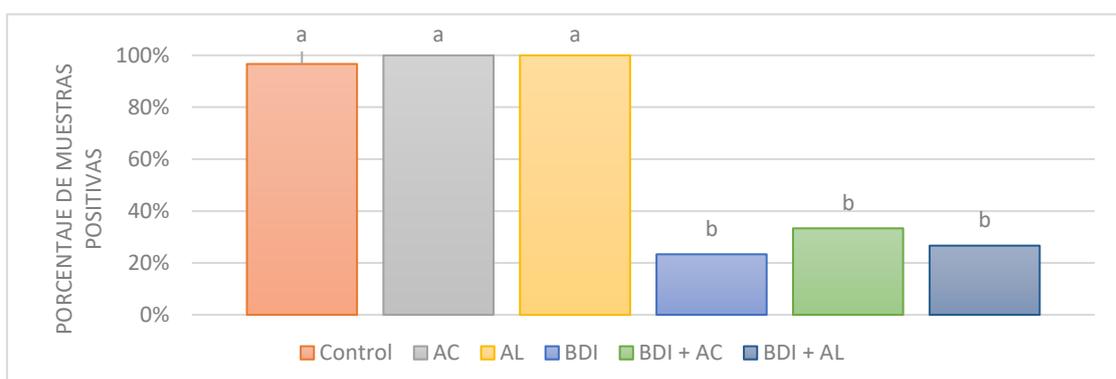
Gráfico 5.11. Porcentaje de muestras de recortes positivas para los genes *stx*<sub>1</sub>, *stx*<sub>2</sub> y *eae* luego del tratamiento con ácido láctico (AL), ácido caprílico (AC), baja dosis de irradiación (BDI), BDI+AL, BDI + AC y alta dosis de irradiación (ADI).



Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

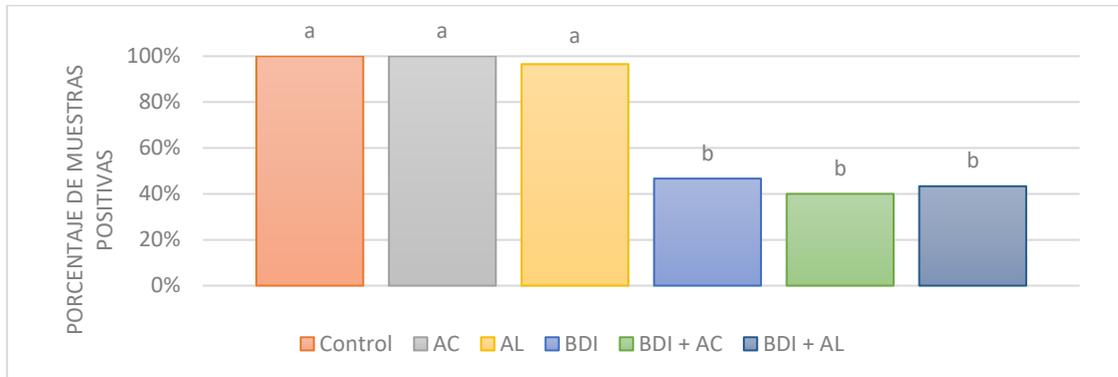
Las muestras positivas para los *stx* y *eae* fueron analizadas para evaluar la presencia de los marcadores moleculares de O157, O103, O145, O111 y O26. Al igual que lo descrito para los genes *stx* y *eae*; no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras tratadas con AL y AC respecto del control. Sí se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras tratadas con BDI, BDI + AL y BDI + AC respecto al control, pero no entre ellas (Gráficos 5.12-5.16). Cabe destacar que como ninguna de las muestras tratadas con ADI resultaron positivas para *stx* y *eae*, se excluyeron del análisis de los marcadores moleculares de serogrupo.

Gráfico 5.12. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O157 luego del tratamiento con ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL), baja dosis de irradiación (BDI), BDI + AC y BDI + AL.



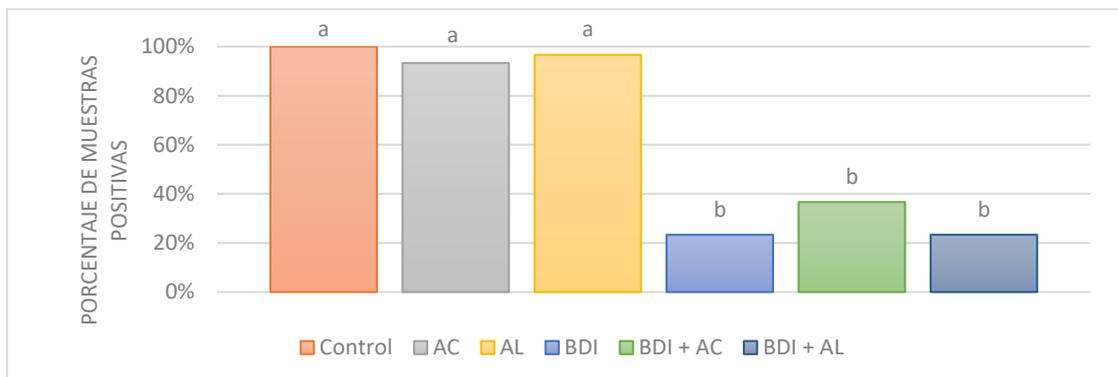
Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

Gráfico 5.13. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O103 luego del tratamiento con ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL), baja dosis de irradiación (BDI), BDI + AC y BDI + AL.



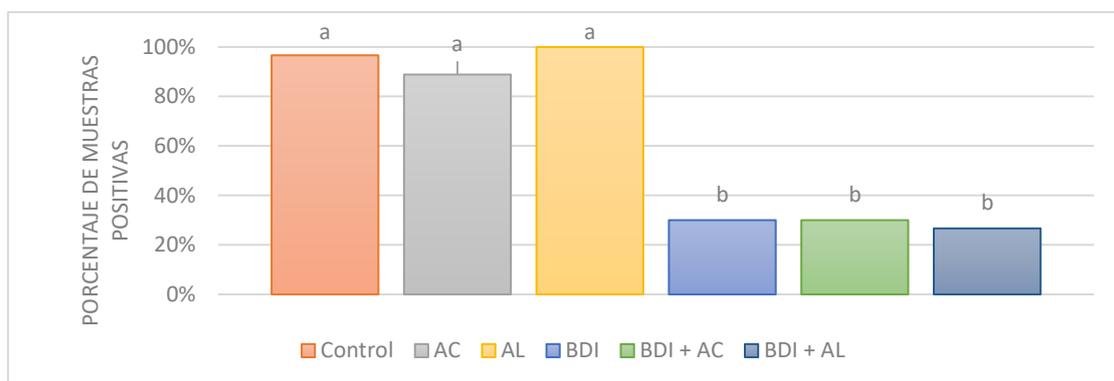
Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

Gráfico 5.14. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O111 luego del tratamiento con ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL), baja dosis de irradiación (BDI), BDI + AC y BDI + AL.



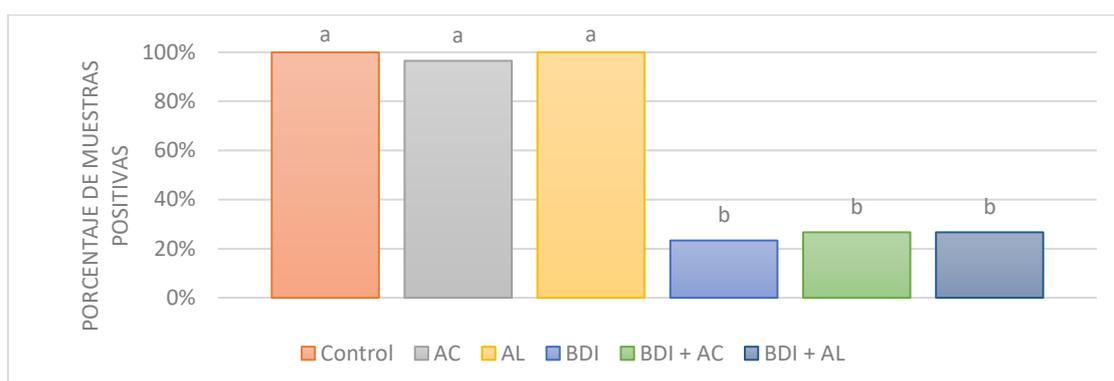
Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

Gráfico 5.15. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O145 luego del tratamiento con ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL), baja dosis de irradiación (BDI), BDI + AC y BDI + AL.



Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

Gráfico 5.16. Porcentaje de muestras de recortes positivas para el marcador molecular O26 luego del tratamiento con ácido caprílico (AC), ácido láctico (AL), baja dosis de irradiación (BDI), BDI + AC y BDI + AL.



Letras distintas representan diferencias estadísticamente significativas ( $\alpha=0,05$ ).

### 5.3.3 Efectos sobre parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales

Los mejores 4 tratamientos en términos de reducciones logarítmicas de STEC fueron: ADI, BDI + AL, BDI solo y BDI + AC, sin diferencias significativas entre BDI y BDI + AC. Po ello, los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales se evaluaron sólo en 3 tratamientos, ADI, BDI + AL, BDI solo.

#### 5.3.3.1 pH

Las muestras control presentaron un valor promedio de pH de 6. Las muestras tratadas con ADI y con BDI sola presentaron un valor promedio de 5,91; diferente al promedio de las muestras control, pero iguales entre sí. Las muestras tratadas con BDI combinado

con AL presentaron un valor promedio de 5,02; diferente del control y de las muestras tratadas con BDI y ADI ( $P < 0,05$ ) (Tabla 5.8).

### 5.3.3.2 Parámetros cromáticos

En líneas generales las muestras crudas tratadas con ADI no se diferenciaron de las muestras control en ninguno de los parámetros analizados ( $= a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $h^\circ$  and  $L^*$ ). Las muestras crudas tratadas con BDI presentaron un color menos rojizo ( $< a^*$ ), con menos saturación ( $< C^*$ ), mayor ángulo hue ( $> h^\circ$ ) e igual luminosidad ( $= L^*$ ) que las muestras crudas control. Las muestras crudas tratadas con BDI combinado con AL presentaron un color aún menos rojizo ( $<< a^*$ ), con menos saturación ( $<< C^*$ ) y mayor ángulo hue ( $>> h$ ) pero igual luminosidad ( $= L^*$ ) que las muestras control y las muestras tratadas con BDI y ADI. El color amarillo fue menor ( $< b^*$ ) al de las muestras control, pero no se diferenciaron del de las muestras tratadas con BDI ni con ADI ( $P < 0,05$ ) (Tabla 5.8).

Con relación a las hamburguesas cocidas, las muestras tratadas con BDI y ADI no se diferenciaron de las muestras control en ninguno de los parámetros analizados ( $= a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ , y  $L^*$ ) excepto para el ángulo hue ( $h^\circ$ ), el cual fue mayor en las muestras tratadas con BDI respecto de las muestras control y las muestras tratadas con ADI. Las muestras tratadas con BDI + AL presentaron mayor luminosidad ( $> L^*$ ), un color menos amarillento ( $< b^*$ ) y menor intensidad ( $< C$ ) que las muestras control y las muestras tratadas con BDI y ADI ( $P < 0,05$ ) (Tabla 5.8).

### 5.3.3.3 Pérdida de peso por cocción (PPC)

La PPC en muestras tratadas con BDI y ADI fue semejante al registrado para las muestras control mientras que la PPC en muestras tratadas con BDI combinado con AL fue significativamente más alto que el registrado para las muestras control y las muestras tratadas con BDI y ADI ( $P < 0,05$ ) (Tabla 5.8).

### 5.3.3.4 Resistencia y trabajo de corte

Los parámetros de textura observados para las muestras tratadas con BDI y ADI fueron similares a los observados para las muestras control. En cuanto a las muestras tratadas con BDI combinado con AL, los valores de resistencia al corte máximo fueron más altos que los valores observados para las muestras tratadas con BDI ( $P < 0,05$ ). Sin embargo, los valores referidos al trabajo de corte no se diferenciaron del control ni de las muestras tratadas con BDI y ADI (Tabla 5.8).

### 5.3.3.5 Oxidación lipídica

De mayor a menor los valores promedio de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) fueron 1,23; 0,87; 0,74 y 0,53 mg eq MDA/kg DM y correspondieron a las muestras tratadas con BDI combinado con AL, BDI, ADI y finalmente las muestras control (sin tratamiento). Todos los tratamientos resultaron estadísticamente diferentes del control y entre ellos (Tabla 5.8).

Tabla 5.8. Parámetros de calidad de hamburguesas preparadas con recortes control, tratados con baja dosis de irradiación (BDI), BDI combinado con ácido láctico (BDI+AL) y alta dosis de irradiación (ADI).

Parámetro		Tratamientos			
		Control	BDI	BDI + AL	ADI
<b>pH de muestras crudas</b>		6,00 (0,03) a	5,91 (0,03) b	5,02 (0,02) c	5,91 (0,02) b
<b>Parámetros cromáticos en muestras crudas</b>	L*	41,92 (0,89) a	43,11 (1,85) a	41,47 (1,67) a	42,13 (1,73) a
	a*	14,49 (1,13) a	12,51 (0,95) b	9,50 (0,69) c	13,58 (1,35) ab
	b*	13,00 (0,56) a	12,62 (0,65) ab	12,06 (0,50) b	12,45 (0,43) ab
	C*	19,49 (1,12) a	17,80 (1,10) b	15,37 (0,79) c	18,46 (1,22) ab
	h°	42,02 (1,65) c	45,42 (1,08) b	51,83 (1,26) a	42,73 (2,29) c
<b>Parámetros cromáticos en muestras cocidas</b>	L*	41,79 (2,49) b	40,68 (3,27) b	46,80 (2,49) a	41,55 (3,81) b
	a*	7,66 (0,61) ab	8,17 (0,54) a	6,87 (0,81) b	7,93 (0,61) a
	b*	11,10 (0,34) a	10,72 (0,33) a	9,27 (1,19) b	10,67 (0,40) a
	C*	13,51 (0,51) a	13,49 (0,48) a	11,55 (1,39) b	13,31 (0,61) a
	h°	55,48 (2,04) a	52,79 (1,70) b	53,34 (1,81) ab	53,50 (1,93) ab
<b>Pérdida de peso por cocción (%)</b>		16,30 (1,14) b	18,58 (2,62) b	31,23 (2,79) a	18,82 (2,67) b
<b>Textura (Test de Kramer )</b>	Resistencia de corte máxima (N)	183,55 (12,31) ab	170,42 (18,88) b	202,18 (18,89) a	189,54 (21,36) ab
	Trabajo de corte (J)	1,31 (0,09) a	1,23 (0,14) a	1,37 (0,20) a	1,37 (0,22) a
<b>Oxidación lipídica</b>	TBARS (mg eq MDA /kg DM)	0,53 (0,04) d	0,87 (0,07) b	1,23 (0,09) a	0,74 (0,03) c

Las medias con letra diferente dentro de una misma fila son significativamente diferentes a un nivel de confianza del 95%. TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico.

### 5.3.3.6 Evaluación visual de color

En la evaluación de color el control ciego arrojó un resultado de 0,28 producto del efecto placebo. Este resultado confirma la fiabilidad de las respuestas dadas por los participantes. En el análisis de varianza, no se identificaron diferencias significativas en lo que refiere al efecto evaluador mientras que si se detectaron diferencias significativas al efecto tratamiento. La prueba de comparaciones múltiples de Dunnett mostró que las muestras tratadas fueron significativamente diferentes con respecto a la muestra control (Tabla 5.9).

Tabla 5.9. Resultados de la evaluación visual de color de las hamburguesas preparadas con recortes tratados con baja dosis de irradiación (BDI), BDI combinado con ácido láctico (BDI+AL) y alta dosis de irradiación (ADI).

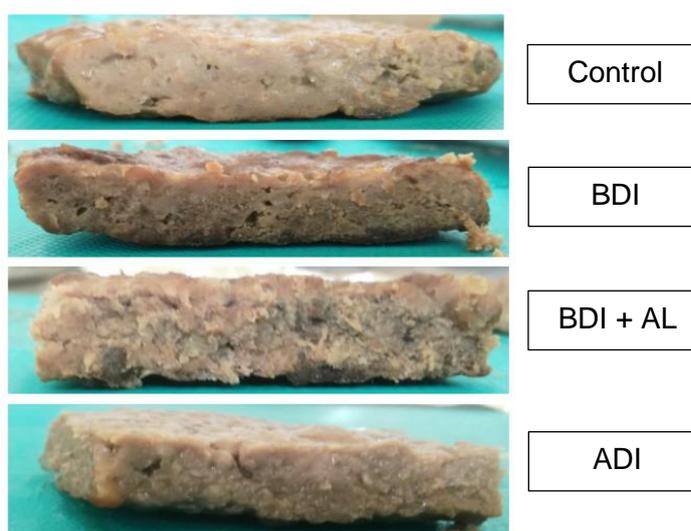
			<b>Interpretación</b>
Tratamiento	Control	BDI	Apenas más oscura a bastante más oscura
Respuesta promedio	0,28a	1,50b	
Tratamiento	Control	BDI+AL	Bastante más oscura a mucho más oscura
Respuesta promedio	0,28a	2,83b	
Tratamiento	Control	ADI	Apenas más oscura a bastante más oscura
Respuesta promedio	0,28a	1,73b	

Las medias con letra diferente dentro de una misma fila son significativamente diferentes a un nivel de confianza del 95%. ( $DMS_{0,05} = 0,26$ ).

### 5.3.3.7 Evaluación global de flavor

En la prueba triangular se hallaron diferencias significativas de flavor entre las muestras tratadas y las muestras control. Sin embargo, cabe remarcar que los atributos responsables de esta diferenciación fueron: la textura, la jugosidad y la intensidad de salado, sin destacarse ningún descriptor negativo en cuanto a gusto o sabor asociado a algún tratamiento. Las muestras tratadas con BDI + AL presentaron una falta de liga muy marcada produciéndose el desarmado de la hamburguesa al momento de cortarla. Los evaluadores destacaron esta característica en sus comentarios (Ilustración 5.13).

Ilustración 5.13. Hamburguesas cocidas preparadas con recortes tratados con baja dosis de irradiación (BDI), BDI combinado con ácido láctico (BDI+AL) y alta dosis de irradiación (ADI).



## 5.4 Discusión

En el presente trabajo los tratamientos con AL y con AC solos no resultaron efectivos para reducir STEC en recortes de carne vacuna. Otros autores informaron resultados favorables para el AC contra *Listeria monocytogenes* en carne picada y contra *E. coli* no patogénica en recortes de carne vacuna (Hulankova y col., 2013; Mohan y col., 2012). Hulankova y col., (2013) utilizaron una concentración de AC de 0,5% e informaron una reducción de más de 2 log UFC/g de *Listeria monocytogenes*. Sin embargo, es importante remarcar que la concentración utilizada fue aproximadamente 10 veces superior a la utilizada en el presente trabajo (0,04%) y al máximo admitido para productos cárnicos por las autoridades sanitarias de EE.UU. (USDA, 2015). Con respecto al trabajo publicado por Mohan y col., (2012), los autores expusieron recortes de carne vacuna artificialmente inoculados con *E. coli* a una solución de AC (0,04%) combinado con 10% (w/v) de fosfato trisódico (TSP) e informaron una reducción de 1,1 log UFC/g. Las diferencias observadas entre este trabajo y el de Mohan y col., (2012) podrían explicarse por la combinación del AC con el TSP o bien por la naturaleza de la cepa estudiada (*E. coli* no toxigénica vs STEC). Con respecto al AL, nuestros resultados coinciden con aquellos informados por Harris y col., (2012) quienes demostraron que tras exponer recortes de carne vacuna artificialmente inoculados con *E. coli* a una solución de AL al 2 y al 5%, no se observó reducción alguna. Contrariamente, Ransom y col., (2003) informaron una reducción de 1,1 log UFC/g de *E. coli* O157:H7 luego de tratar recortes de carne vacuna con una solución de AL 2%. Las diferencias entre los resultados de los ensayos podrían deberse a la variabilidad de resistencia de las cepas evaluadas en cada ensayo, a las diferentes concentraciones de AL evaluado (0,5% vs 2%) y diferencias en las condiciones experimentales utilizadas en cada caso.

El tratamiento más efectivo fue el de ADI ya que tanto para las muestras con alto inóculo como para las muestras con bajo inóculo, la inactivación de cepas STEC fue total. Los resultados coinciden con lo informado por Sommers y col., (2015) y Xavier y col., (2014). El segundo tratamiento más efectivo en las muestras con alto inóculo, fue BDI combinado con AL. El aumento de efectividad tras la combinación con ácidos fue previamente informada por Bhide y col., (2001) y Kim y col., (2004). Bhide y col., (2001) expusieron carne de cordero a un tratamiento de “pre-sensibilización” con AL 2% y luego a un tratamiento de irradiación gamma con 1, 2 y 3 kGy e informaron que las reducciones en el recuento total de bacterias mesófilas y *Bacillus cereus* fueron mayores tras la combinación con ácidos que con irradiación solo. Kim y col., (2004) evaluaron el efecto de AL 2% e irradiación con haz de electrones (1, 2 y 3 kGy), solos y combinados, en carne de cerdo e informaron que el tratamiento combinado fue más efectivo para reducir

el recuento de bacterias aerobias totales que los tratamientos solos. Una posible explicación para el aumento de efectividad en los tratamientos combinados es que el menor valor de pH (5,02) generó un efecto bactericida adicional al tratamiento de irradiación. El mismo fenómeno fue informado por Surve y col., (1991). Vale la pena mencionar que la mayor efectividad del tratamiento combinado observado en las muestras con alta concentración de inóculo, no se observó en las muestras con baja concentración de inóculo. Probablemente porque el daño ejercido por el AL no fue letal y durante la etapa de enriquecimiento las cepas fueron capaces de recuperarse y tornarse detectables por PCR-TR.

El tercer tratamiento más efectivo en muestras con alta concentración de inóculo fue BDI sola o combinada con AC, la reducción logarítmica promedio para estos tratamientos fue 1,3 log UFC/g. Este resultado coincide con lo informado por Sommers y col., (2015) quienes estimaron la dosis de irradiación requerida para reducir 1 ciclo logarítmico de STEC en carne picada e informaron un rango de entre 0,16 a 0,48 kGy. Contrariamente, nuestro resultado fue menor a la observado por Xavier y col., (2014) quienes informaron que tras la exposición de recortes de carne bovina artificialmente inoculados con *E. coli* a un tratamiento de irradiación con 0,5 kGy se observó una reducción de 2,6 log UFC/g. Las diferencias entre los resultados de Xavier y col., (2014) y los del presente trabajo pueden deberse al tipo de inóculo utilizado en cada trabajo. Xavier y col., (2014) trabajaron con 1 cepa no patogénica de *E coli* mientras que en este trabajo se utilizó un coctel de cepas STEC. La caracterización genómica de las cepas también fue informada como relevante en cuanto a la resistencia de las cepas STEC al tratamiento de irradiación. Sommers y col., (2015) demostraron que las cepas STEC *eae*-positivas presentaban mayor resistencia al tratamiento de irradiación gamma que cepas STEC *eae*-negativas. Las cepas incluidas en el presente trabajo eran todas *eae*-positivas. En muestras con baja concentración de inóculo tratadas con BDI solo o combinado con AC, el porcentaje de muestras positivas para *stx* y *eae* pos tratamiento fue del 70% y el porcentaje de muestras positivas para cada marcador molecular fue en promedio del 25%, excepto para STEC O103 que fue del 47%. La mayor reducción observada para los marcadores moleculares de serogrupo comparado con la reducción observada para los genes *stx* y *eae* era esperada ya que el número inicial de bacterias pertenecientes a cada serogrupo fue significativamente menor al número inicial de bacterias positivas para los genes *stx* y *eae*. Para el caso particular de STEC O103, la diferencia con respecto a los otros serogrupos no era esperada y puede suponerse una mayor resistencia de la cepa.

Con relación al efecto de los tratamientos de irradiación solos (ADI y BDI) sobre las características fisicoquímicas y atributos sensoriales de las hamburguesas preparadas

con recortes de carne vacuna se observó que las muestras irradiadas crudas presentaron un color menos rojizo y con menos intensidad, pero con mayor ángulo hue que las muestras control. Resultados semejantes fueron informados por Xavier y col., (2014) y Nanke y col., (1999) quienes trataron carne vacuna con 1,5 y 2 kGy, respectivamente. Los cambios en la intensidad del color también fueron descriptos por los panelistas como ligera a moderadamente más oscuras que las muestras control. Estos cambios probablemente estén asociados con el proceso normal de oxidación de la mioglobina la cual tras el proceso de irradiación gamma en atmosfera rica en oxígeno puede verse exacerbada por la rápida generación de mayor cantidad de metmioglobina (Brewer, 2004). Con respecto a la oxidación lipídica, tal como era esperado, las hamburguesas preparadas con recortes irradiados presentaron valores de TBARS superiores a las muestras control. La irradiación per se favorece la propagación de los radicales libres de los ácidos grasos y la formación de radicales libres de oxígeno. Llamativamente el tratamiento con ADI presentó valores menores que el tratamiento con BDI. Datos bibliográficos informan que el estado oxidativo de la carne aumenta proporcionalmente con la dosis de irradiación a la cual es expuesto. Una posible explicación a lo hallado en el presente trabajo es que tanto el MDA así como otras cadenas de carbono cortas que se forman tras el proceso de irradiación no fueron estables en el tiempo y la oxidación de estos productos generó alcohol y ácidos orgánicos no detectables por la técnica de TBARS (Fernández y col., 1997). A pesar de esta limitante, el test TBARS sigue siendo el más utilizados para evaluar oxidación lipídica en carnes ya que los compuestos que generan mayor interferencia son los aldehídos de los carbohidratos y la carne tiene muy bajo contenido de carbohidratos. En la evaluación global de flavor, todos los panelistas identificaron a las muestras irradiadas como distintas a las muestras control, pero los atributos responsables de dicha discriminación fueron: textura, jugosidad e intensidad de salado. En lo que refiere al estudio de los parámetros tecnológicos tales como pérdida de peso por cocción y la textura, los resultados fueron semejantes a las muestras control.

Con respecto al efecto del tratamiento de irradiación combinado con AL (BDI + AL) sobre las características fisicoquímicas y atributos sensoriales de las hamburguesas preparadas con recortes de carne vacuna se observó que las muestras tratadas crudas se identificaron como las menos rojizas, menos amarillentas, con la menor intensidad, con el mayor ángulo hue pero con la misma luminosidad que las muestras de control. Como estas diferencias no se observaron en las muestras tratadas con BDI sola, se puede asumir que el tratamiento con AL fue el responsable de ellas. Estos resultados coinciden con lo informado por otros autores (Friedrich y col., 2008; Rodríguez-Melcón y col. 2017). Estas diferencias también fueron percibidas en el análisis sensorial ya que

los panelistas describieron a la intensidad del color como de moderada a mucho más oscuro que en la muestra de control. En cuanto a la pérdida de peso por cocción, los valores fueron superiores a los registrados en las muestras de control, resultado coincidente con lo informado Friedrich y col., (2008). Este fenómeno puede deberse tanto a la disminución del pH así como a la desnaturalización de proteínas inducida por el AL, lo que resultó en una disminución de la capacidad de retención de agua de las proteínas (Aaslyng y col., 2003). Con respecto a la oxidación de lípidos, los valores TBARS de las muestras tratadas con BDI + AL fueron más altos que en las muestras de control. Esto último podría atribuirse al efecto acumulativo de la irradiación y el ácido orgánico así como a los valores de pH más bajos (Kim y col., 2004; Kwoh, 1971). Finalmente, en lo que refiere a la evaluación de las diferencias globales de flavor, las muestras tratadas fueron identificadas como diferentes a las muestras control pero los atributos responsables de dicha discriminación fueron además de textura, jugosidad, intensidad de salado y “falta de liga”.

## 5.5 Conclusiones

Los tratamientos con ácidos orgánicos por sí solos no fueron eficaces en lo que respecta a la inactivación de STEC. El tratamiento más eficaz fue la irradiación gamma de dosis alta (2 kGy), ya que logró la inactivación total de STEC en muestras de alta y baja concentración de inóculo y causó un mínimo cambio en los parámetros de calidad de la carne y en sus atributos sensoriales. El tratamiento con baja dosis de irradiación (0,5 kGy) sola o combinada con ácido caprílico al 0,04% causó una letalidad de STEC de 1,38 log UFC/g en muestras de alta concentración de inóculo y una reducción del 30% en el número de muestras positivas para los genes *stx* y *eae* en muestras de bajo inóculo. El tratamiento con BDI (0,5 kGy) combinado con 0,5% de ácido láctico causó una mayor letalidad de STEC que el tratamiento de BDI solo (1,68 log UFC/g) en muestras con alta concentración de inóculo, pero se mantuvo igual en muestras con baja concentración de inóculo (30%). En cuanto a los parámetros de calidad de la carne y los atributos sensoriales, el tratamiento con BDI y 0,5% de LA fue menos eficaz que el tratamiento con BDI sola para preservar estos parámetros. Por lo tanto, basado en los resultados del presente capítulo, no se observaron beneficios después de combinar ácidos orgánicos con irradiación gamma.

---

**6 Capítulo 3 – Evaluación de intervención tendiente a reducir la presencia de STEC en carne bovina picada.**

---

## 6.1 Objetivos específicos

- Evaluar la efectividad de la irradiación gamma como estrategia de intervención tendiente a reducir la presencia de STEC en carne bovina picada a través de la estimación de la dosis de irradiación mínima necesaria para reducir 5 ciclos logarítmicos de la contaminación con cepas STEC O26, O103, O111, O145, O157 en forma individual y con estas cepas en forma de coctel.
- Evaluar la efectividad de la dosis mínima de irradiación en muestras de carne bovina picada inoculadas con baja concentración de STEC O157 y con baja concentración del coctel de cepas STEC.
- Evaluar la aceptabilidad del consumidor de la carne bovina picada irradiada en comparación con la carne bovina picada control (no irradiada).

## 6.2 Materiales y métodos

### 6.2.1 Diseño experimental

Se realizaron 3 ensayos. En el ensayo 1, se determinó la dosis de irradiación mínima necesaria para reducir 5 ciclos logarítmicos de STEC en carne bovina picada. La dosis mínima de tratamiento con irradiación gamma, es la dosis que consigue una finalidad técnica definida, en el presente trabajo esta dosis se definió como aquella que logrará una reducción de 5 ciclos logarítmicos de una población de STEC. Para establecerla fue necesario conocer el valor de  $D_{10}$ , es decir, la dosis de irradiación que reduce un ciclo logarítmico de una población homogénea de microorganismos en una determinada matriz y condición. Para calcularlo se deben realizar las curvas de inactivación (recuento vs dosis) y estimar la inversa de la pendiente. El ensayo se realizó 3 veces con 3 réplicas cada vez. En el ensayo 2, se evaluó la efectividad de la dosis mínima en muestras de carne bovina picada inoculadas con una baja concentración de STEC. Para ello, el ensayo se repitió 3 veces con 30 réplicas (bolsas de 25 g de carne bovina picada) cada vez. En el ensayo 3, se evaluó la aceptabilidad general del consumidor de hamburguesas preparadas con carne picada irradiada comparado con la aceptabilidad general del consumidor de hamburguesas preparadas con carne picada sin irradiar. La prueba se realizó con 108 consumidores.

### 6.2.2 Materia prima

La materia prima correspondió a dos bolsas de carne bovina picada de 20 Kg. Las mismas fueron adquiridas en una cadena de supermercados y trasladadas congeladas al Centro Atómico Ezeiza de la CNEA. Una bolsa se destinó a los ensayos 1 y 2 mientras que la otra bolsa se destinó al ensayo 3.

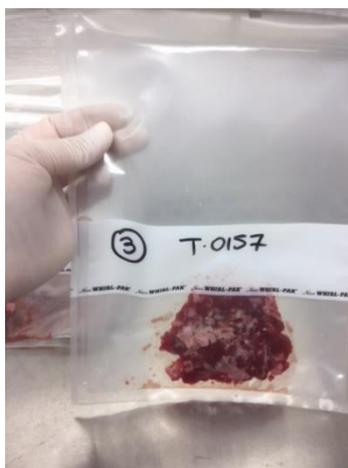
### 6.2.3 Control Materia prima

La bolsa de los ensayos 1 y 2, se descongeló en refrigeración y se irradió con una dosis de 19 kGy y a una temperatura de  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ , con el objeto de eliminar la microbiota natural. La irradiación se realizó en la Planta de Irradiación Gamma Semi-Industrial del Centro Atómico Ezeiza de la CNEA, cuya fuente es de Cobalto 60 (820 kCi), en condiciones de refrigeración (actividad, 820 kCi; temperatura,  $12 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ; tasa de dosis promedio, 8.7 kGy/h; uniformidad de dosis promedio, 1.05 kGy).

### 6.2.4 Preparación de la muestra

La bolsa del ensayo 1 y 2 se fraccionó en bolsas estériles (Whirl-Pak Nasco; EE.UU.) con 25 g de muestra cada una (Ilustración 6.14). La bolsa del ensayo 3 se mantuvo congelada hasta el día de su procesamiento.

Ilustración 6.14. Muestra de carne bovina picada correspondiente al ensayo 1 y 2.



### 6.2.5 Cepas bacterianas y preparación del inóculo

Las cepas y la preparación de inóculo se describieron en el capítulo 1 (ítem 4.2.5).

### **6.2.6 Inoculación de la muestra**

Para el ensayo 1, las cepas se inocularon individualmente y en forma conjunta. El volumen de inóculo fue el suficiente para obtener una concentración final alta, de  $10^7$  UFC/g. Para el ensayo 2, las cepas se inocularon en forma conjunta, así como en forma individual para la cepa que resultó más resistente en el ensayo 1. El volumen de inóculo fue el suficiente para obtener una concentración final baja, de  $10^1$  UFC/g. Las muestras se masajearon presionando la bolsa externamente para garantizar la distribución homogénea de las bacterias. Se incluyeron muestras inoculadas sin tratar como control (Ilustración 6.15).

Ilustración 6.15. Inoculación de la muestra de carne bovina picada.



### **6.2.7 Aplicación de intervenciones**

Para el ensayo 1 se aplicaron 6 dosis de irradiación gamma: 0,2 – 0,4 – 0,6 – 0,8 y 1,2 kGy. Las dosis de los ensayos 2 y 3 se definieron en función de los resultados. La aplicación se realizó tal cual a lo descrito en el ítem 5.2.7.2.

### **6.2.8 Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con alta concentración de STEC**

Ídem 4.2.8

## **6.2.9 Análisis microbiológicos de las muestras inoculadas con una baja concentración de STEC**

Ídem 4.2.9

### **6.2.10 Evaluación de la aceptabilidad general del consumidor**

#### 6.2.10.1 Preparación de hamburguesas

Se prepararon hamburguesas utilizando como materia prima la carne bovina picada tratada y sin tratar (control). El procedimiento fue tal como se describió en el ítem 5.2.10.1

#### 6.2.10.2 Cocción de hamburguesas

Ídem 5.2.10.4 En la ilustración 6.16 se presentan las hamburguesas cocidas (control y tratadas).

Ilustración 6.16. Hamburguesas preparadas con carne bovina picada irradiada y sin irradiar, luego de la cocción.



#### 6.2.10.3 Prueba de aceptabilidad

Se realizó con 108 consumidores. Cada evaluador recibió 2 porciones de cada muestra inmediatamente luego de su cocción, en recipientes térmicos codificados (Ilustración

6.17). A cada participante se le solicitó evaluar de cada muestra la aceptabilidad global y la aceptabilidad en relación a los atributos apariencia, textura y sabor sobre una escala hedónica de 9 puntos, siendo las categorías definidas como: 9= me gusta muchísimo; 8= me gusta mucho; 7= me gusta; 6= me gusta un poco; 5= ni me gusta ni me disgusta; 4= me disgusta un poco; 3= me disgusta; 2= me disgusta mucho; 1= me disgusta muchísimo. La mitad de los participantes probó primero la muestra control y la otra mitad probó primero la muestra tratada.

Ilustración 6.17. Presentación de las muestras de hamburguesas, preparadas con carne bovina picada irradiada, para la evaluación global de flavor.



### 6.2.11 Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de la dosis sobre los recuentos de bacterias se empleó ANOVA de una vía. Para el análisis de regresión y el cálculo de  $D_{10}$  se utilizó la metodología de regresión lineal disponible en MS Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA). Para evaluar los resultados de la prueba de aceptabilidad se realizó un análisis de varianza de dos factores (consumidor y muestra) con el objeto de determinar si había o no diferencias significativas entre las muestras tratadas y la muestra referencia. Se utilizó InfoStat software (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina).

## 6.3 Resultados

### 6.3.1 Estimación de la dosis de irradiación gamma mínima

Las curvas de inactivación para cada cepa y para el coctel de cepas STEC se muestran en los gráficos 6.17 a 6.22. El recuento bacteriano para cada dosis es el promedio de las réplicas de las 3 repeticiones. Los valores de  $D_{10}$  (inversas de la pendiente) fueron de 0,15 kGy para STEC O103 y O145; 0,17 kGy para STEC O26 y O111 y de 0,19 kGy para STEC O157. Para el coctel de cepas STEC el valor  $D_{10}$  fue de 0,20 kGy. Los valores  $R^2$  fueron de 0,97; 0,99; 0,99; 0,98; 0,99 y 0,99 para STEC O26, O103, O111, O145, O157 y para el coctel de cepas STEC, respectivamente. Con base a los resultados del presente ensayo, la cepa más resistente fue STEC O157, aunque el máximo valor de  $D_{10}$  se observó para el coctel de cepas STEC. Por ende, la dosis de irradiación mínima para reducir 5 ciclos logarítmicos estimada fue de 1 kGy (0,20 kGy \* 5).

Gráfico 6.17. Curva de inactivación, recuento (expresado como promedio de log UFC/g con su respectivo desvío estándar) vs dosis de irradiación, de STEC O26 inoculado en carne bovina picada.

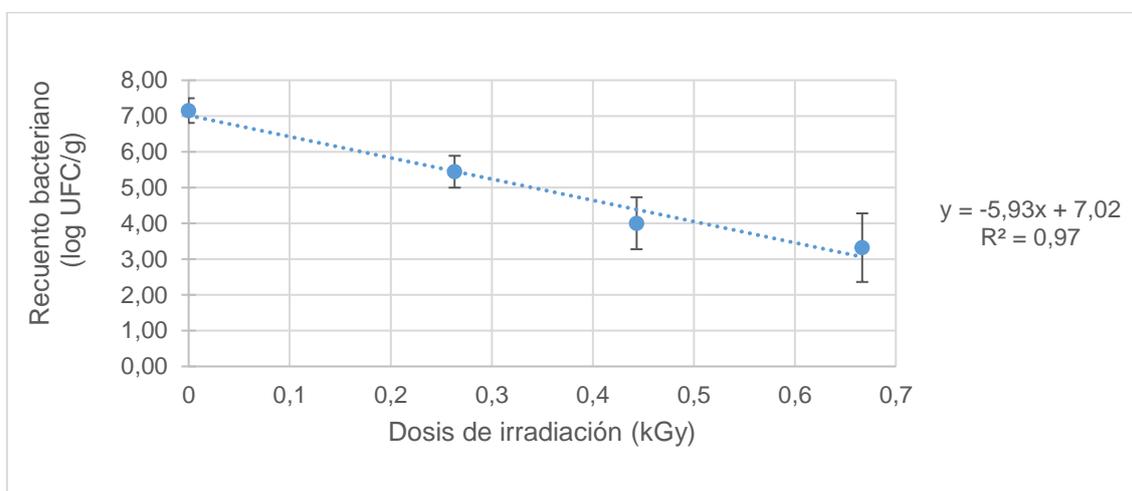


Gráfico 6.18. Curva de inactivación, recuento (expresado como promedio de log UFC/g con su respectivo desvío estándar) vs dosis de irradiación, de STEC O103 inoculado en carne bovina picada.

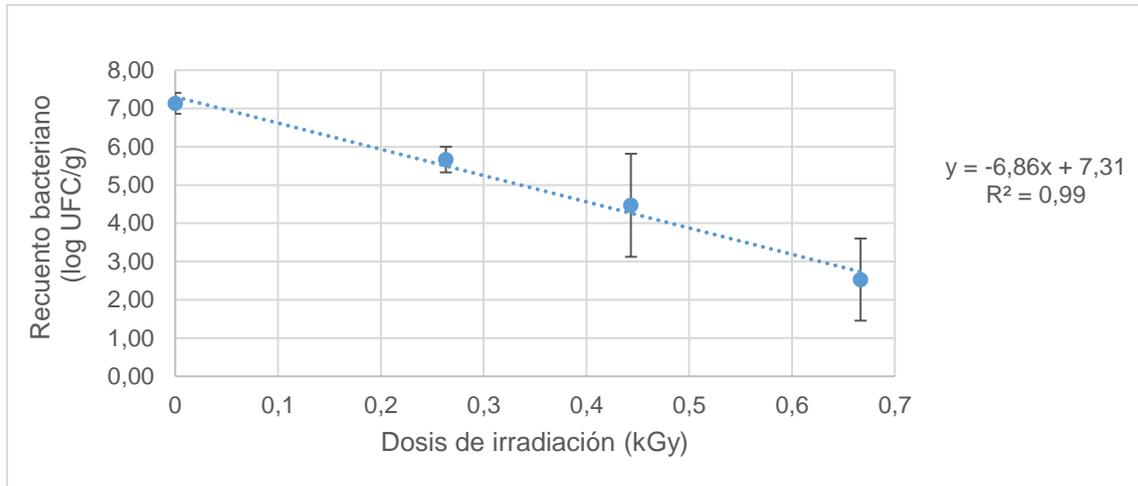


Gráfico 6.19. Curva de inactivación, recuento (expresado como promedio de log UFC/g con su respectivo desvío estándar) vs dosis de irradiación, de STEC O111 inoculado en carne bovina picada.

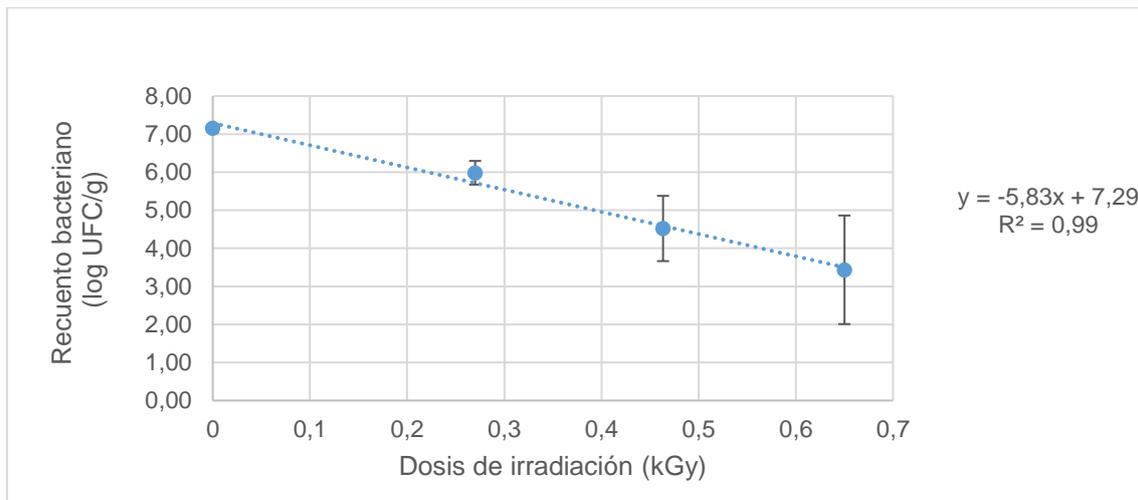


Gráfico 6.20. Curva de inactivación, recuento (expresado como promedio de log UFC/g con su respectivo desvío estándar) vs dosis de irradiación, de STEC O145 inoculado en carne bovina picada.

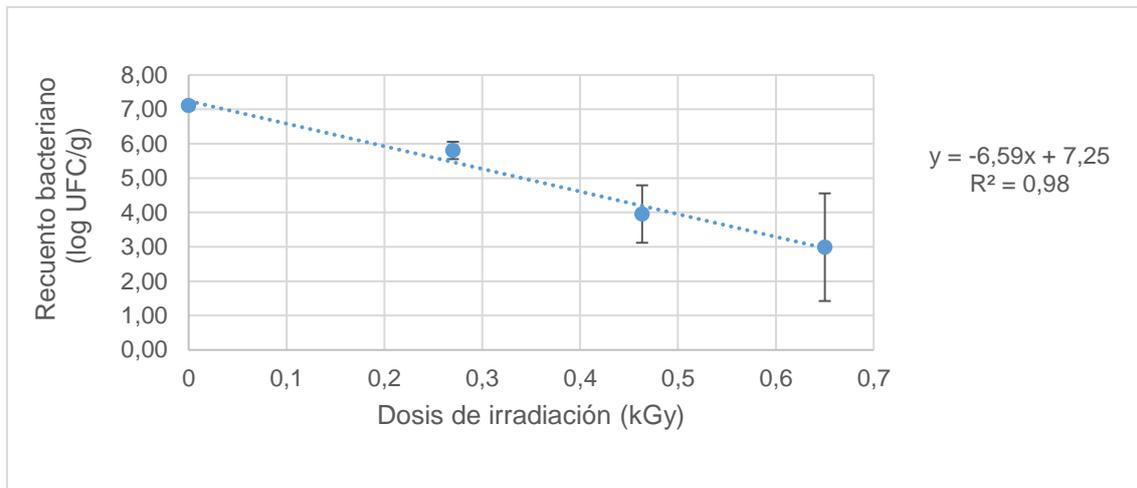


Gráfico 6.21. Curva de inactivación, recuento (expresado como promedio de log UFC/g con su respectivo desvío estándar) vs dosis de irradiación, de STEC O157 inoculado en carne bovina picada.

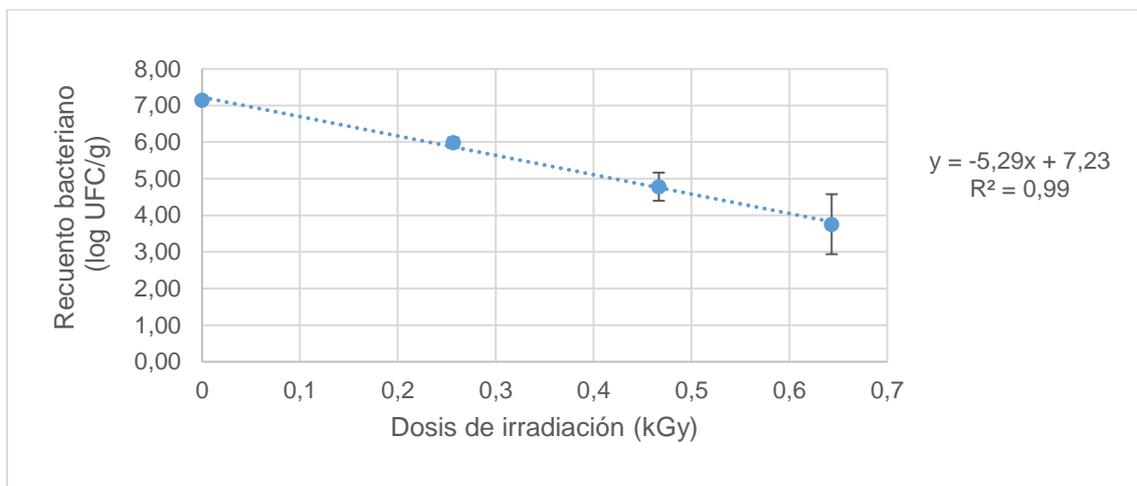
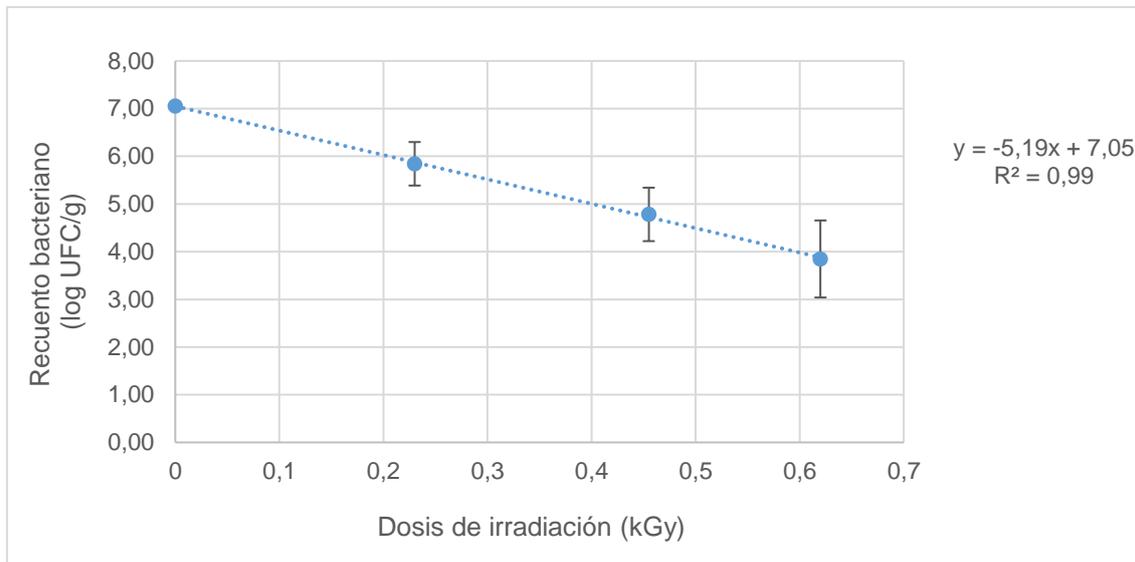


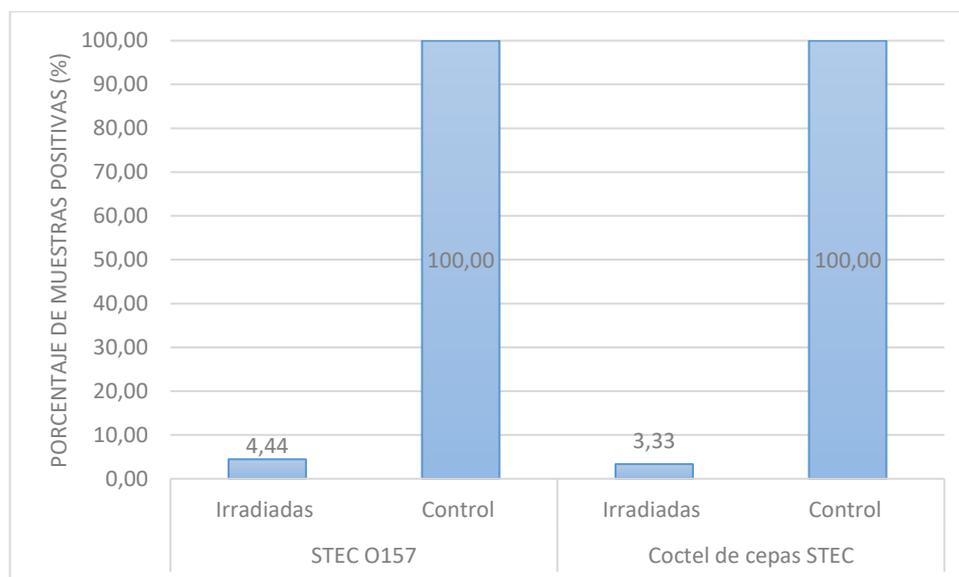
Gráfico 6.22. Curva de inactivación, recuento (expresado como promedio de log UFC/g con su respectivo desvío estándar) vs dosis de irradiación, del coctel de cepas inoculado en carne bovina picada.



### 6.3.2 Efectividad de la dosis mínima en muestras con baja concentración de STEC

Tras la primera repetición ninguna de las muestras irradiadas resultó positiva para los genes *stx* y *eae*. En la segunda repetición, 4 de las 30 muestras inoculadas con STEC O157 e irradiadas con 1 kGy resultaron positivas para los genes *stx* y *eae*, mientras que ninguna de las muestras inoculadas con el coctel de cepas STEC resultó positiva. En la tercera repetición, 3 de las 30 muestras inoculadas con el coctel de cepas STEC e irradiadas con 1 kGy resultaron positivas para los genes *stx* y *eae*, mientras que ninguna de las muestras inoculadas STEC O157 resultó positiva. Al considerar las 3 repeticiones en las que se realizó el ensayo, 4 (4,4%) de las 90 muestras inoculadas con STEC O157 e irradiadas con 1 kGy resultaron positivas para los genes *stx* y *eae*, mientras que 3 (3,3%) de las 90 muestras inoculadas con el coctel de cepas STEC e irradiadas resultaron positivas. En referencia a las muestras control, la totalidad de las muestras resultaron positivas para los genes *stx* y *eae* (Gráfico 6.23).

Gráfico 6.23. Porcentaje de muestras de carne bovina picada positivas para *stx* y *eae* luego del tratamiento de irradiación con 1 kGy.



### **6.3.3 Efecto del tratamiento de irradiación sobre la aceptabilidad del consumidor**

La dosis de irradiación gamma seleccionada para este ensayo fue de 2,5 kGy. La selección se basó no sólo en la posible dispersión de dosis en una aplicación comercial (la relación de uniformidad de dosis,  $D_{max} / D_{min}$ , debe ser inferior a 3) (Eichholz, 2003), sino también en el hecho de que 1 kGy no fue suficiente para inactivar completamente las cepas STEC. Si nos basamos en los resultados del capítulo dos, 2 KGy fueron suficientes para inactivar las cepas STEC. Por ende, entendemos que 2,5 kGy sería suficiente para alcanzar el objetivo propuesto.

Los resultados de la prueba de aceptabilidad demostraron que no se halló evidencia que permita establecer diferencias estadísticamente significativas ( $P > 0,01$ ) entre los promedios de aceptabilidad general y de atributos de las muestras tratadas y las muestras control. Los promedios de aceptabilidad obtenidos se ubicaron entre “me gusta un poco” y “me gusta” para todos los atributos evaluados (Tabla 6.10).

Tabla 6.10. Promedios de aceptabilidad de las hamburguesas preparadas con carne bovina picada irradiada con 2,5 kGy.

<b>Atributo</b>	<b>Control</b>	<b>Irradiado</b>	<b>p-valor</b>	<b>DMS (1%)</b>
<b>Aceptabilidad general</b>	6,73	6,33	0,05	0,51
<b>Apariencia</b>	6,44	6,37	0,63	0,49
<b>Textura</b>	6,41	6,27	0,48	0,50
<b>Sabor</b>	6,75	6,31	0,05	0,57

Escala hedónica de 9 puntos (1= me disgusta muchísimo; 5 = ni me gusta ni me disgusta y 9= me gusta muchísimo)

## 6.4 Discusión

Los valores de  $D_{10}$  hallados fueron de 0,15; 0,17 y 0,19 kGy. Estos resultados coinciden con los informados por Sommers y col., (2015) quienes evaluaron la resistencia de 40 cepas STEC inoculadas en carne picada magra e informaron un rango que fue desde 0,16 a 0,48 kGy. Asimismo, los autores clasificaron las cepas analizadas según su caracterización genómica y encontraron que las cepas con presencia del gen *eae* presentaron un valor promedio de  $D_{10}$  inferior (0,27 kGy) a las cepas que no presentaban el gen *eae* (0,37 kGy). Clavero y col., (1994) evaluaron la resistencia de cepas *E. coli* O157:H7 inoculadas en hamburguesas de carne vacuna con dos concentraciones de grasa (11% y 28%) e informaron un rango de  $D_{10}$  de 0,24 a 0,31 kGy, sin diferencias significativas con respecto a la cantidad de grasa presente en las hamburguesas. Thayer y Boyd, (1993) aplicaron un modelo de superficie de respuesta para evaluar el efecto combinado de dosis de irradiación, temperatura y vacío sobre la inactivación de cepas *E. coli* O157:H7 inoculadas en carne de pollo y en carne bovina. Los autores describieron un efecto significativo de la temperatura sobre la resistencia de las cepas, observándose un  $D_{10}$  promedio de 0,27 kGy con temperaturas de refrigeración (5°C) y de 0,44 kGy con temperaturas de congelación (-5°C). Asimismo, identificaron diferencias según el momento de la curva de crecimiento en la que se encontraban las cepas, si estaban en fase de crecimiento exponencial el  $D_{10}$  fue de 0,16 kGy mientras que si se encontraban en fase estacionaria el  $D_{10}$  fue de 0,27 kGy. Los autores también describieron que los valores de  $D_{10}$  no diferían significativamente por efecto del vacío. En el presente ensayo, todas las cepas analizadas presentaban los genes *stx* y *eae*, se encontraban en fase de crecimiento estacionario y la irradiación se aplicó en condiciones de refrigeración y sin vacío. Por todo lo antedicho se puede concluir que las cepas STEC analizadas en el presente ensayo se identificaron dentro del rango inferior de  $D_{10}$  informado por otros autores, posiblemente asociado con el grado de resistencia intrínseca de las cepas. Los valores de  $D_{10}$  se utilizan, entre otras aplicaciones, para estimar la dosis mínima de tratamiento con irradiación gamma. La dosis mínima se define como la dosis que permite alcanzar una finalidad técnica definida. En el presente trabajo esta dosis se definió como aquella que logrará una reducción de 5 ciclos logarítmicos de una población de STEC. Tras el análisis de los resultados se estimó que era de 1 kGy.

El objetivo del ensayo 2 fue evaluar la efectividad de la dosis mínima en muestras con baja concentración de inóculo. De esa forma, se trató de imitar una situación real en donde si la carne bovina picada está contaminada con STEC lo está en muy baja

concentración y en donde la metodología para detectarla, de acuerdo a los estándares internacionales, es a través de una PCR - TR luego de un paso de enriquecimiento selectivo. Los resultados demostraron que 4,4% de las muestras inoculadas con STEC O157 y 3,3% de las muestras inoculadas con un coctel de cepas STEC resultaron positivas para los genes *stx* y *eae* luego del tratamiento de irradiación gamma con 1 kGy y un enriquecimiento selectivo por 18 h. Estos resultados fueron inesperados ya que 1 kGy debería haber sido más que suficiente para inactivar los 2 log UFC de STEC que había por muestra. Una posible explicación es que en algunas células el daño generado por la irradiación no fue letal y durante el enriquecimiento fueron capaces de recuperarse y tornarse detectables por PCR – TR. En un estudio reciente se demostró que STEC O157:H7 puede resistir dosis de irradiación gamma no letales gracias a importantes modificaciones en la expresión génica y en los perfiles de las proteínas que incluye reparación de escisión de nucleótidos (Gaougaou y col., 2020). Frente a dosis más altas las células de STEC no deberían ser capaces de recuperarse, tal como fue demostrado en el capítulo 2 para dosis de 2 kGy. Los resultados del presente capítulo demuestran una vez más la importancia de evaluar la efectividad de los tratamientos con más de un nivel de inóculo e incluyendo etapas de enriquecimiento, en las cuales las bacterias injuriadas son capaces de recuperarse. La existencia de cepas injuriadas en alimentos y su potencial recuperación es un asunto crítico ya que bacterias en estado injuriado puede constituir un peligro para la salud pública (Wu, 2008).

Con relación a la prueba de aceptabilidad del consumidor, no se hallaron diferencias significativas entre las hamburguesas preparadas con carne picada irradiada con 2,5 kGy y las muestras control (no irradiadas). Los promedios de aceptabilidad obtenidos se ubicaron entre “me gusta un poco” y “me gusta” para todos los atributos evaluados. Resultados similares a los informados por Schilling y col., (2009) y Vickers y Wang (2002) quienes demostraron altos niveles de aceptabilidad de hamburguesas irradiadas con 2 y 1,5 kGy respectivamente. Asimismo, Vickers y Wang (2002) demostraron que al proporcionar información previa acerca de los beneficios de la irradiación mediante un volante informativo confeccionado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (“Las diez preguntas más frecuentes acerca de alimentos irradiados”) la aceptabilidad de las hamburguesas irradiadas se incrementaba.

## 6.5 Conclusiones

Basado en los resultados obtenidos para las muestras con alta concentración de inóculo, la dosis de irradiación gamma mínima necesaria para reducir 5 ciclos logarítmicos de STEC fue de 1 kGy. Sin embargo, cuando las muestras con baja concentración de inóculo se trataron con 1 kGy, 4,4% de las muestras inoculadas con STEC O157 resultaron positivas para *stx* y *eae*, y el 3,3% de las muestras inoculadas con un coctel de cepas STEC resultaron positivas para *stx* y *eae*. En referencia a la prueba de aceptabilidad del consumidor, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre las hamburguesas preparadas con carne picada irradiada con 2,5 kGy y las hamburguesas preparadas con carne picada sin irradiar (control).

---

## **7 Conclusiones generales**

---

En la problemática de STEC y carne vacuna hay, por lo menos, 2 certezas. La primera es que el bovino es reservorio de varios serotipos de STEC y que las bacterias presentes en el cuero y en el tracto digestivo pueden ser transferidas a la carne durante su faena y procesamiento. La segunda es que la implementación de un Plan de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC) es el puntapié inicial para su control. Al día de la fecha en nuestro país, muchos frigoríficos no tienen implementados APPCC. En los productos provenientes de estos frigoríficos no se recomienda intervención alguna. Sin embargo, para aquellos en lo que sí se implementa, a lo largo de muchos años se han evaluado diferentes tratamientos con el objetivo de diseñar una estrategia de intervención efectiva. Sin embargo, los resultados han sido disímiles y no se ha podido alcanzar un consenso.

En este plan de trabajo nos hemos propuesto evaluar, optimizar y promover estrategias de intervención para reducir la presencia de STEC (O157 y no-O157) en cortes, recortes (materia prima para la preparación de hamburguesas) y carne bovina picada. Los resultados demostraron que, de todos los tratamientos evaluados para cortes enteros, solo el AC sería efectivo para reducir STEC sin alterar de manera significativa los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales del producto. También, se demostró que la combinación de irradiación gamma a baja dosis con ácidos orgánicos no produce ventaja alguna para el control de STEC en recortes de carne bovina; y que la irradiación gamma a dosis moderada por si sola es, sin lugar a dudas el tratamiento más efectivo para controlar STEC tanto en recortes como en carne bovina picada. Finalmente, se demostró que el tratamiento con irradiación evaluada en el presente trabajo no sólo no afectó de manera significativa los parámetros fisicoquímicos y atributos sensoriales de la carne y hamburguesas, sino que la aceptabilidad por parte del consumidor fue igual a la observada para los productos sin irradiar.

La información obtenida permitirá brindar asesoramiento a la industria y mejorar el posicionamiento de la Argentina frente a las autoridades sanitarias de los países que son destino de nuestras exportaciones. Asimismo, los responsables de definir políticas de gestión de la inocuidad en nuestro país, contarán con información precisa y confiable, a partir de la cual promover la adopción de estas prácticas en los frigoríficos de consumo interno con APPCC, lo que, a su vez, contribuiría a reducir la prevalencia de exposición del patógeno en la población general y, en consecuencia, morigerar sus efectos nocivos en la salud pública.

---

## **8 Referencias bibliográficas**

---

- Aaslyng, M.D.; Bejerholm, C.; Ertbjerg, P.; Bertram, H.C., y Andersen, H.J. (2003). Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. *Food Quality and Preference*, 14(4), 277-288. doi:10.1016/S0950-3293(02)00086-1
- AMSA. (2015). *Research Guidelines for Cookery, Sensory Evaluation, and Instrumental Tenderness Measurements of Meat*. Recuperado de: <http://www.meatscience.org>
- Baba, H.; Kanamori, H.; Kudo, H.; Kuroki, Y.; Higashi, S.; Oka, K.; Takahashi, M.; Yoshida, M.; Oshima, K.; Aoyagi, T.; Tokuda, K. y Kaku, M. (2019). Genomic analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from patients and asymptomatic food handlers in Japan. *PLOS ONE*, 14(11), e0225340. doi:10.1371/journal.pone.0225340
- Baldry M.G.C. y Fraser J.A.L. (1988). *Disinfection with peroxygens*. (Payne KR, Ed.). Industrial biocides.
- Baskaran, S.A.; Bhattaram, V.; Upadhyaya, I.; Upadhyaya A.; Kollahoor-Johny, A.; Schreiber, D. y Venkitanarayanan, K. (2013). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 on Cattle Hides by Caprylic Acid and  $\beta$ -Resorcylic Acid. *Journal of Food Protection*, 76(2), 318-322. doi:10.4315/0362-028X.JFP-12-248
- Bhude, M.R.; Paturkar, A.M.; Sherikar, A.T. y Waskar, V.S. (2001). Presensitization of microorganisms by acid treatments to low dose gamma irradiation with special reference to *Bacillus cereus*. *Meat Science*, 58(3), 253-258. doi:10.1016/S0309-1740(00)00162-5
- Block, S.S. (1991). *Disinfection, sterilization, and preservation*. Philadelphia (Pa.): Lea and Febiger.
- Boletín integrado de vigilancia N ° 560 SE30/2021*. (2021).
- Brewer, S. (2004). Irradiation effects on meat color – a review. *Meat Science*, 68(1), 1-17. doi:10.1016/j.meatsci.2004.02.007
- Brusa, V.; Costa, M.; Padola, N.L.; Etcheverría, A.; Sampedro, F.; Fernandez, P.S., Leotta, G. y Signorini, M.L. (2020). Quantitative risk assessment of haemolytic uremic syndrome associated with beef consumption in Argentina. *PLOS ONE*, 15(11), e0242317. doi:10.1371/journal.pone.0242317
- Bull, M.K.; Hayman, M.M.; Stewart, C.M.; Szabo, E.A. y Knabel, S.J. 2005. Effect of prior growth temperatura, type of enrichment médium, and temperature and time of storage on recovery of *Listeria monocytogenes* following high pressure processing of milk. *Int. J. Food Microbiol* 101: 53-61.
- Choi, M.J.; Kim, S.A.; Lee, N.Y.; y Rhee, M.S. (2013). New decontamination method based on caprylic acid in combination with citric acid or vanillin for eliminating *Cronobacter sakazakii* and *Salmonella* enterica serovar Typhimurium in reconstituted infant formula. *International Journal of Food Microbiology*, 166(3), 499-507. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.08.016
- Clavero, M.R.S.; Monk, J.D.; Beuchat, L.R.; Doyle, M.P. y Brackett, R.E. (1994). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonellae*, and *Campylobacter jejuni* in raw ground beef by gamma irradiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(6), 2069-2075.
- CNEA. (2020). Irradiación de Alimentos. Recuperado de: <https://www.argentina.gob.ar/cnea/Tecnologia-nuclear/irradiacion-gamma/irradiacion-de-alimentos>. consulta

- Código Alimentario Argentino. (2015). Capítulo VI: Artículos 247 al 519-Alimentos Cárneos y Afines. Recuperado de: [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/codigoa/capitulo\\_vi\\_carneos\\_actualiz\\_2007-08.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/codigoa/capitulo_vi_carneos_actualiz_2007-08.pdf)
- Código Alimentario Argentino. (2021). Capítulo III: De los productos alimenticios. Artículo 174 - (Resolución Conjunta SPReI y SAV N° 13-E/2017).
- Comisión Europea. (2013). REGLAMENTO (UE) N° 101/2013 DE LA COMISIÓN de 4 de febrero de 2013 relativo a la utilización de ácido láctico para reducir la contaminación de superficie de las canales de bovinos. *Diario Oficial de la Unión Europea*, 9(7), 3. Recuperado de: [http://www.aditivosalimentarios.es/php\\_back/documentos/archivos/32013R0101.pdf](http://www.aditivosalimentarios.es/php_back/documentos/archivos/32013R0101.pdf)
- Davidson, P.M. y Taylor T.M. (2007). *Chemical preservatives and Natural Antimicrobial Compounds. Food Microbiology: Fundamentals and frontiers*. (Michael P. Doyle & Larry R. Beuchat, Eds.) (3er editio.). Washington, Estados Unidos: ASM press.
- Desbois, A.P. y Smith, V.J. (2010). Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85(6), 1629-1642. doi:10.1007/s00253-009-2355-3
- Descalzo, A.M.; Insani, E.M.; Biolatto, A.; Sancho, A.M.; García, P.T.; Pensel, N.A., y Josifovich, J.A. (2005). Influence of pasture or grain-based diets supplemented with vitamin E on antioxidant/oxidative balance of Argentine beef. *Meat Science*, 70(1), 35-44. doi:10.1016/j.meatsci.2004.11.018
- Ding, T.; Rahman, S.M.E.; Purev, U. y Oh, D-H. (2010). Modelling of *Escherichia coli* O157:H7 growth at various storage temperatures on beef treated with electrolyzed oxidizing water. *Journal of Food Engineering*, 97(4), 497-503. doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.11.007
- Eichholz, G.G. (2003). Dosimetry for Food Irradiation. *Health Physics*, 84(5), 665. doi:10.1097/00004032-200305000-00016
- FAIR CT 96-1020. (1999). *Harmonization of Safety Criteria for Minimally Processed Foods: Rational and Harmonization Report FAIR Concerted Action FAIR CT96-1020*. Recuperado de: <http://www.alma.kuleuven.ac.be>
- FAO, Food and Agriculture Organization. (2003). Norma General del Codex para los Alimentos Irradiados. *CODEX STAN, 106-1983*.
- FAO, Food and Agriculture Organization (2018). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and food: attribution, characterization and monitoring. ISSN 1726-5274. Recuperado de: <http://www.fao.org/3/ca0032en/CA0032EN.pdf>
- Fernández-Brando, R.J.; Amaral, M.M.; Ciocchini, A.E.; Bentancor, L.V.; Trelles, J.A.; da Rocha, M.; Landriel, M; Ugarte, M.; Briones, G.; Ibarra, C. y Palermo, M.S. (2017). Microbiological and serological control of *Escherichia coli* O157: H7 in kindergarten staff in Buenos Aires city and suburban areas. *Medicina*, 77(3), 185-190.
- Fernández, J.; Pérez-Álvarez, J.A. y Fernández-López, J.A. (1997). Thiobarbituric acid test for monitoring lipid oxidation in meat. *Food Chemistry*, 59(3), 345-353. doi:10.1016/S0308-8146(96)00114-8
- Fraser, J.A.L.; Godfree, A.F. y Jones, F. (1984). Use of peracetic acid in operational sewage sludge disposal to pasture. *Water Sci Technol*, 17, 451-66.

- Friedrich, L.; Siró, I.; Dalmadi, I.; Horváth, K.; Ágoston, R. y Balla, Cs. (2008). Influence of various preservatives on the quality of minced beef under modified atmosphere at chilled storage. *Meat Science*, 79(2), 332-343. doi:10.1016/j.meatsci.2007.10.012
- Gaougaou, G.; Shankar, S.; Liot, Q.; Constant, P.; Déziel, E. y Lacroix, M. (2020). Gamma irradiation triggers a global stress response in *Escherichia coli* O157:H7 including base and nucleotides excision repair pathways. *Microbial Pathogenesis*, 104342. doi:10.1016/j.micpath.2020.104342
- Gaze, J.E.; Brown, G.D.; Gaskell, D.E. y Banks, J.G. (1989). Heat resistance of *Listeria monocytogenes* in homogenates of chicken, beef steak and carrot. *Food Microbiology*. doi:10.1016/S0740-0020(89)80006-1
- Gould, L.H.; Mody, R.K.; Ong, K.L.; Clogher, P.; Cronquist, A.B.; Garman, K.N., Lathrop, S.; Medus, C.; Spina, N.L.; Webb, T.H.; White, P.L.; Wymore, K.; Gierke, R.E.; Mahon, B.E. y Griffin, P.M. (2013). Increased recognition of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States during 2000-2010: epidemiologic features and comparison with *E. coli* O157 infections. *Foodborne pathogens and disease*, 10(5), 453-60. doi:10.1089/fpd.2012.1401
- Gracia, K.S y McKillip, J. L. 2004. A review of conventional detection and enumeration methods for pathogenic bacteria in food. *Can. J. Microbiol.* 50: 883-890.
- Greer, G.G. y Dilts, B.D. (1992). Factors affecting the susceptibility of meatborne pathogens and spoilage bacteria to organic acids. *Food Research International*, 25(5), 355-364. doi:10.1016/0963-9969(92)90110-Q
- Hansen, T.B.; Knochel, S.; Juncher, D. y Bertelsen, G. (1995). Storage characteristics of sous vide cooked roast beef. *International Journal of Food Science & Technology*. doi:10.1111/j.1365-2621.1995.tb01384.x
- Harris, D.; Brashears, M.M.; Garmyn, A.J.; Brooks, J.C., y Miller, M.F. (2012). Microbiological and organoleptic characteristics of beef trim and ground beef treated with acetic acid, lactic acid, acidified sodium chlorite, or sterile water in a simulated commercial processing environment to reduce *Escherichia coli* O157:H7 and Salmon. *Meat Science*, 90(3), 783-788. doi:10.1016/j.meatsci.2011.11.014
- Hricova, D.; Stephan, R. y Zweifel, C. (2008). Electrolyzed water and its application in the food industry. *Journal of Food Protection*, 71(9), 1934-1947. doi:10.4315/0362-028X-71.9.1934
- Hsu, H.Y.; Shiohshuh, S.; Sites, J.; Cassidy, J.; Scullen, B. y Sommers, C. (2015). Effect of High Pressure Processing on the survival of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (Big Six vs. O157: H7) in ground beef. *Food Microbiology*, 48, 1-7. doi:10.1016/j.fm.2014.12.002
- Hulankova, R.; Borilova, G. y Steinhauserova, I. (2013). Combined antimicrobial effect of oregano essential oil and caprylic acid in minced beef. *Meat Science*, 95(2), 190-194. doi:10.1016/j.meatsci.2013.05.003
- IAEA - International Atomic Energy Agency. (2015). Manual of good practice in food irradiation: sanitary, phytosanitary and other applications. *Technical Reports Series*, (481), 1-85. Recuperado de: <http://www-pub.iaea.org/MTCD/Publications/PDF/trs481web-98290059.pdf>
- ISO. (2012a). ISO/TS 13136:2012. Microbiology of food and animal feed -- Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens -- Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing

*Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O111, O26, O103 and O145 serogroups.

- ISO. Microbiology of food and animal feed — Real-time polymerase chain reaction (PCR)-based method for the detection of food-borne pathogens — Horizontal method for the detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and the determination of O157, O (2012).
- ISO 8589/2007. (s. f.). Sensory analysis -- General guidance for the design of test rooms. Recuperado de: <https://www.iso.org/standard/36385.html>
- JECFA. (2005). Evaluation of certain food additive and contaminants. *Sixty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*, (960), 1-226, back cover. Recuperado de: [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_928.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_928.pdf)
- Kalchayanand, N.; Arthur, T.M.; Bosilevac, J.M.; Brichta-Harhay, D.M.; Guerini, M.N.; Wheeler, T.L. y Koohmaraie, M. (2008). Evaluation of Various Antimicrobial Interventions for the Reduction of *Escherichia coli* O157:H7 on Bovine Heads during Processing. *Journal of food protection*, 71(3), 621-4. doi:10.4315/0362-028X-71.3.621
- Kalchayanand, N.; Arthur, T.M.; Bosilevac, J.M.; Schmidt, J.W.; Wang, R.; Shackelford, S.D. y Wheeler, T.L. (2012). Evaluation of Commonly Used Antimicrobial Interventions for Fresh Beef Inoculated with Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Serotypes O26, O45, O103, O111, O121, O145, and O157:H7. *Journal of Food Protection*, 75(7), 1207-1212. doi:10.4315/0362-028X.JFP-11-531
- Karpman, D.; Loos, S.; Tati, R. y Arvidsson, I. (2016). Haemolytic uraemic syndrome. *Journal of internal medicine*, (Table 1), 123-148. doi:10.1111/joim.12546
- Kim, B. H.; Jang, A.; Lee, S.O.; Min, J.S. y Lee, M. (2004). Combined effect of electron-beam (beta) irradiation and organic acids on shelf life of pork loins during cold storage. *J Food Prot*, 67(1), 168-171. doi:10.4315/0362-028X-67.1.168
- Kim, J-S.; Lee, M-S. y Kim, J.H. (2020). Recent Updates on Outbreaks of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* and Its Potential Reservoirs. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(June), 1-10. doi:10.3389/fcimb.2020.00273
- Kim, S.A. y Rhee, M.S. (2015). Synergistic antimicrobial activity of caprylic acid in combination with citric acid against both *Escherichia coli* O157: H7 and indigenous microflora in carrot juice. *Food Microbiology*. doi:10.1016/j.fm.2015.02.009
- King, D.A.; Lucia, L.M.; Castillo, A.; Acuff, G.R.; Harris, K.B. y Savell, J.W. (2005). Evaluation of peroxyacetic acid as a post-chilling intervention for control of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium on beef carcass surfaces. *Meat Science*, 69(3), 401-407. doi:10.1016/j.meatsci.2004.08.010
- Kobayashi, H.; Miyamoto, Y.; Hashimoto, Y; Kirki, M.; Motomatsu, A.; Honjoh, K. y Lio, M. 2005. Identification of factors involved in recovery of heat injured *Salmonella enteritidis*. *J. Food. Prot.* 68: 932-941. Kobayashi, H.; Miyamoto, Y.; Hashimoto, Y; Kirki, M.; Motomatsu, A.; Honjoh, K. y Lio, M. 2005. Identification of factors involved in recovery of heat injured *Salmonella enteritidis*. *J. Food. Prot.* 68: 932-941.
- Birk, M.D.; Pires, S.M.; Black, R.E.; Caipo, M.; Crump, J.A.; Devleeschauwer, B.; Döpfer, D.; Fazil, A.; Fischer-Walker, C.L.; Hald, T.; Hall, A.J.; Keddy, K.H.; Lake, R.J.; Lanata, C.F.; Torgerson, P.R.; Havelaar, A.H. y Angulo, F.J. (2015). World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 22 Foodborne Bacterial, Protozoal, and Viral Diseases, 2010: A Data Synthesis. *PLOS Medicine*, 12(12), e1001921. doi:10.1371/journal.pmed.1001921

- Kitis, M. (2004). Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environment International*, 30(1), 47-55. doi:10.1016/S0160-4120(03)00147-8
- Kwoh, T.L. (1971). Catalysts of lipid peroxidation in meats. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 48(10), 550-555. doi:10.1007/BF02544560
- Leaper, S. (2007). Synergistic killing of spores of *Bacillus subtilis* by peracetic acid and alcohol. *International Journal of Food Science and Technology*.
- Masana, M.O.; D'Astek, B.; Palladino, P.M.; Galli, L.; Del Castillo, L.L.; Carbonari, C.; Leotta, G.; Vilacoba, E.; Irino, K y Rivas, M. (2011). Genotypic characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef abattoirs of Argentina. *Journal of food protection*, 74(12), 2008-17. doi:10.4315/0362-028X.JFP-11-189
- Masana, M.O.; Leotta, G.; Del Castillo, L.L.; D'Astek, B.; Palladino, P.M.; Galli, L.; Vilacoba, E.; Carbonari, C.; Rodriguez, H.R y Rivas, M. (2010). Prevalence, characterization, and genotypic analysis of *Escherichia coli* O157:H7/NM from selected beef exporting abattoirs of Argentina. *Journal of food protection*, 73(4), 649-56. Recuperado de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20377952>
- McDaniel, T. K.; Jarvis, K. G.; Donnenberg, M. S. y Kaper, J. B. (1995). A genetic locus of enterocyte effacement conserved among diverse enterobacterial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(5), 1664-1668. doi:10.1073/pnas.92.5.1664
- Mohan, A. y Pohlman, F.W. (2016). Role of organic acids and peroxyacetic acid as antimicrobial intervention for controlling *Escherichia coli* O157: H7 on beef trimmings. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 868-873. doi:10.1016/j.lwt.2015.08.077
- Mohan, A.; Pohlman, F.W.; McDaniel, J.A. y Hunt, M. C. (2012). Role of Peroxyacetic Acid, Octanoic Acid, Malic Acid, and Potassium Lactate on the Microbiological and Instrumental Color Characteristics of Ground Beef. *Journal of Food Science*. doi:10.1111/j.1750-3841.2011.02600.x
- Montville, T.J y Matthews, K.R. Growth, Survival, and Death of Microbes in Foods. Doyle, M.P. y Beuchart, L.R. *Food Microbiology, Fundamentals and Frontiers*. AMS Press. Tercera edición. Capítulo 1: 15-16.
- Mora, A.; López, C.; Dhabi, G.; López-Beceiro, A.M.; Fidalgo, L.E.; Díaz, E.A.; Martínez-Carrasco, C.; Mamani, R.; Herrera, A.; Blanco, J.E.; Blanco, M. y Blanco, J. (2012). Seropathotypes, Phylogroups, Stx Subtypes, and Intimin Types of Wildlife-Carried, Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Strains with the Same Characteristics as Human-Pathogenic Isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8), 2578-2585. doi:10.1128/AEM.07520-11
- Nanke, K.E.; Sebranek, J.G. y Olson, D.G. (1999). Color characteristics of irradiated aerobically packaged pork, beef, and turkey. *Journal of Food Science*, 64(2), 272-278. doi:10.1111/j.1365-2621.1998.tb15842.x
- Ngutter, C. y Donnelly, C. 2003. Nitrate induce injury of *Listeria monocytogenes* and the effect of selective vs nonselective recovery procedures on its isolation from frankfurters. *J. Food. Prot.* 66: 2252-2257.
- Rahman, S.M.E.; Ding, T. y Oh, D-H. (2010). Effectiveness of low concentration electrolyzed water to inactivate foodborne pathogens under different environmental conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 139(3), 147-157. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2010.03.020
- Rahman, S.; Khan, I. y Oh, D-H. (2016). Electrolyzed Water as a Novel Sanitizer in the

- Food Industry: Current Trends and Future Perspectives. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(3), 471-490. doi:10.1111/1541-4337.12200
- Ransom, J.R.; Belk, K.E.; Sofos, J.N.; Stopforth, J.D.; Scanga, J.A. y Smith, G.C. (2003). Comparison of Intervention Technologies for Reducing *Escherichia coli* O157 : H7 on Beef Cuts. *Food Protection Trends*, 23(1), 24-34.
- Rivas, M.; Sosa-Estani, S.; Rangel, J.; Caletti, M.G.; Vallés, P.; Roldán, C.; Balbi, L.; Marsano De Mollar, M.C.; Amoedo, D.; Miliwebsky, E.; Chinen, I.; Hoekstra, R.M.; Mead, P. y Griffin, P.M. (2008). Risk factors for sporadic Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in children, Argentina. *Emerging Infectious Diseases*, 14(5), 763-771. doi:10.3201/eid1405.071050
- Rodríguez-Melcón, C.; Alonso-Calleja, C. y Capita, R. (2017). Lactic acid concentrations that reduce microbial load yet minimally impact colour and sensory characteristics of beef. *Meat Science*, 129, 169-175. doi:10.1016/j.meatsci.2017.01.007
- Santapaola, M.F. (2013). “*Ácidos orgánicos como método de intervención . Efecto sobre agentes patógenos y alteradores relevantes en la industria frigorífica. Empleo en carne equina*”. Tesis de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.
- Schilling, M.W.; Yoon, Y.; Tokarskyy, O.; Pham, A.J.; Williams, R.C. y Marshall, D.L. (2009). Effects of ionizing irradiation and hydrostatic pressure on *Escherichia coli* O157:H7 inactivation, chemical composition, and sensory acceptability of ground beef patties. *Meat Science*. doi:10.1016/j.meatsci.2008.10.023
- Signorini, M.; Costa, M.; Teitelbaum, D.; Restovich, V.; Brasesco, H.; García, D.; Superno, V.; Petroli, S.; Bruzzone, M.; Arduini, V.; Vanzini, M.; Sucari, A.; Suberbie, G.; Maricel, T.; Rodríguez, R. y Leotta, G.A. (2018). Evaluation of decontamination efficacy of commonly used antimicrobial interventions for beef carcasses against Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. *Meat Science*, 142(April), 44-51. doi:10.1016/j.meatsci.2018.04.009
- Sohaib, M.; Anjum, F.; Arshad, M.S. y Rahman, U. (2016). Postharvest intervention technologies for safety enhancement of meat and meat based products; a critical review. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 19-30. doi:10.1007/s13197-015-1985-y
- Sommers, C.; Rajkowski, K.T.; Scullen, O.J.; Cassidy, J.; Fratamico, P. y Sheen, S. (2015). Inactivation of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in lean ground beef by gamma irradiation. *Food Microbiology*, 49, 231-234. doi:10.1016/j.fm.2015.02.013
- Stone, H. (2012). *Sensory Evaluation Practices. Sensory Evaluation Practices*. doi:10.1016/C2009-0-63404-8
- Surve, A. N.; Sherikar, A. T.; Bhilegaonkar, K. N. y Karkare, U. D. (1991). Preservative effect of combinations of acetic acid with lactic or propionic acid on buffalo meat stored at refrigeration temperature. *Meat Science*, 29(4), 309-322. doi:10.1016/0309-1740(91)90010-N
- Szerman, N.; Ferrari, R.; Sancho, A.M. y Vaudagna, S. (2019). Response surface methodology study on the effects of sodium chloride and sodium tripolyphosphate concentrations, pressure level and holding time on beef patties properties. *LWT*, 109, 93-100. doi:10.1016/j.lwt.2019.04.001
- Thayer, D. W. y Boyd, G. (1993). Elimination of *Escherichia coli* O157:H7 in meats by gamma irradiation. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(4), 1030-1034.

- USDA. (2014). Detection and Isolation of non-O157 Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) from Meat Products. Recuperado de: <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/7ffc02b5-3d33-4a79-b50c-81f208893204/MLG-5B.pdf?MOD=AJPERES>
- USDA. (2015). Safe and Suitable Ingredients used in the Production of Meat, Poultry, and Egg Products, 1-75. Recuperado de: <http://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/bab10e09-aefa-483b-8be8-809a1f051d4c/7120.1.pdf>
- Vaudagna, S. R.; Pazos, A. A.; Guidi, S. M.; Sanchez, G.; Carp, D. J. y Gonzalez, C. B. (2008). Effect of salt addition on sous vide cooked whole beef muscles from Argentina. *Meat Science*. doi:10.1016/j.meatsci.2007.11.001
- Vaudagna, S.R.; Sánchez, G.; Neira, M.S.; Insani, E.M.; Picallo, A.B.; Gallinger, M.M. y Lasta, J.A. (2002). Sous vide cooked beef muscles: Effects of low temperature-long time (LT-LT) treatments on their quality characteristics and storage stability. *International Journal of Food Science and Technology*. doi:10.1046/j.1365-2621.2002.00581.x
- Veasey, S. y Muriana, P. (2016). Evaluation of Electrolytically-Generated Hypochlorous Acid ('Electrolyzed Water') for Sanitation of Meat and Meat-Contact Surfaces. *Foods*, 5(2), 42. doi:10.3390/foods5020042
- Vickers, Z. M. y Wang, J. (2002). Liking of ground beef patties is not affected by irradiation. *Journal of Food Science*. doi:10.1111/j.1365-2621.2002.tb11414.x
- Wu, V. C. H. Á. (2008). A review of microbial injury and recovery methods in food, 25, 735-744. doi:10.1016/j.fm.2008.04.011
- Xavier, M.; Dauber, C.; Mussio, P.; Delgado, E.; Maquieira, A.; Soria, A.; Curuchet, A.; Márquez, R.; Méndez, C. y López, T. (2014). Use of mild irradiation doses to control pathogenic bacteria on meat trimmings for production of patties aiming at provoking minimal changes in quality attributes. *Meat Science*, 98(3), 383-391. doi:10.1016/j.meatsci.2014.06.037

---

## **9 ANEXO**

---

## 9.1 Presentaciones a congresos y jornadas

- ✓ **“Evaluación de intervenciones que buscan mitigar el impacto de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en cortes de carne bovina”** Cap, Mariana; Vaudagna, Sergio; Sucari, Adriana y Leotta, Gerardo. Tipo de publicación: poster. Congreso: Segunda Jornada de Microbiología sobre temas específicos. Microbiología de chacinados y quesos. Tandil, 26 y 27 de abril de 2018.
- ✓ **“Combined effect of irradiation and organic acid treatment on the inactivation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* inoculated on beef trimmings”** Cap, Mariana; Cingolani, Celeste; Lires, Carla; Gentiluomo, Jimena; Sucari, Adriana; Vaudagna, Sergio; Leotta, Gerardo and Horak, Celina. Tipo de publicación: poster. Congreso: IFT-EFFoST 2018 International Nonthermal Processing Workshop and Short course. September 25-27, 2018 / Sorrento-Salerno, Italy.
- ✓ **“Validación de irradiación para reducir la presencia de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en carne picada fresca”** Cap, M., Lires, C., Cingolani, C., Soteras, T., Gentiluomo, J., Principe F. y Vaudagna S.R. Tipo de publicación: trabajo completo. XV Congreso Argentino de Microbiología. Buenos aires, 25-27 de Septiembre de 2019.

## 9.2 Disertaciones

- ✓ Presentación de resultados del **“Proyecto caracterización de riesgo y mitigación de impacto de STEC en la cadena cárnica bovina”**. Tipo de presentación: disertación oral. Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina. C.A.B.A., 4 de septiembre de 2018.
- ✓ **“Estrategias de intervención para el control de STEC”**. Tipo de presentación: disertación oral. Jornada de Valor Agregado, Calidad y TICS para Alimentos, Tecnofidta. Costa Salguero, Buenos Aires, 20 de septiembre de 2018.
- ✓ **Nuevas alternativas para la reducción de STEC en cortes, recortes y carne molida**. Tipo de presentación: disertación oral (virtual). Taller: *Escherichia coli* productor de toxina Shiga. Exportación de carne vacuna, normativas en el mundo y avances en Argentina, organizado por el Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina. 15 de diciembre de 2020.

### 9.3 Publicaciones en revistas científicas.

- ✓ **“Inactivation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in fresh beef by electrolytically-generated hypochlorous acid, peroxyacetic acid, lactic acid and caprylic acid”** Mariana Cap, Sergio Vaudagna, Marina Mozgovej, Trinidad Soteras, Adriana Sucari, Marcelo Signorini y Gerardo Leotta. Tipo de publicación: Reseach paper. Revista: Meat Science. 2019
- ✓ **“Combination of organic acids and low-dose gamma irradiation as antimicrobial treatment to inactivate Shiga toxin-producing *Escherichia coli* inoculated in beef trimmings: Lack of benefits in relation to single treatments”** Mariana Cap, Celeste Cingolani, Carla Lires, Marina Mozgovej, Trinidad Soteras, Adriana Sucari, Jimena Gentiluomo, Adriana Descalzo, Gabriela Grigioni, Marcelo Signorini, Celina Horak, Sergio Vaudagna y Gerardo Leotta. Tipo de publicacion: Reseach paper. PLOS ONE. 2020
- ✓ **“Identification of the gamma irradiation dose applied to ground beef that reduces Shiga toxin producing *Escherichia coli* but has no impact on consumer acceptance”** Mariana Cap, Carla Lires, Celeste Cingolani, Marina Mozgovej, Trinidad Soteras, Jimena Gentiluomo, Francisco Principe, Adriana Sucari, Celina Horak, Marcelo Signorini, Sergio Vaudagna y Gerardo Leotta. Tipo de publicación: Reseach paper. Revista: Meat Science. 2021.

Tabla 9.11. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con agua (diluyente de ácido láctico, peroxiacético y agua electroactivada).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
Agua	1	1	10000	108	185	14650000	7,17	6,81	0,19
	2		10000	82	78	8000000	6,90		
	3		10000	74	62	6800000	6,83		
	4		10000	62	90	7600000	6,88		
	5		10000	103	97	10000000	7,00		
	6	2	1000	286	286	2860000	6,46		
	7		10000	39	39	3900000	6,59		
	8		10000	33	32	3250000	6,51		
	9		1000	229	218	2235000	6,35		
	10	1000	264	299	2815000	6,45			
	11	3	10000	58	51	5450000	6,74		
	12		10000	49	44	4650000	6,67		
	13		10000	72	61	6650000	6,82		
	14	10000	97	70	8350000	6,92			
	15	10000	62	68	6500000	6,81			
	16	4	10000	82	80	8100000	6,91		
	17		10000	78	85	8150000	6,91		
	18		10000	105	90	9750000	6,99		
	19		10000	115	103	10900000	7,04		
	20	10000	87	92	8950000	6,95			
	21	5	10000	55	69	6200000	6,79		
	22		10000	37	35	3600000	6,56		
	23		10000	91	85	8800000	6,94		
	24		10000	70	60	6500000	6,81		
	25	10000	60	62	6100000	6,79			
	26	6	10000	89	82	8550000	6,93		
	27		10000	82	75	7850000	6,89		
	28		10000	93	85	8900000	6,95		
	29		10000	84	78	8100000	6,91		
	30	10000	88	59	7350000	6,87			

Tabla 9.12. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con etanol 95% (diluyente de ácido caprílico)

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
Etanol 95%	1	1	10000	58	56	5,70E+06	6,76	6,75	0,09
	2		10000	47	39	4,30E+06	6,63		
	3		10000	44	68	5,60E+06	6,75		
	4		10000	78	49	6,35E+06	6,80		
	5		10000	56	65	6,05E+06	6,78		
	6	2	10000	63	45	5,40E+06	6,73		
	7		10000	28	46	3,70E+06	6,57		
	8		10000	44	65	5,45E+06	6,74		
	9		10000	50	50	5,00E+06	6,70		
	10		10000	60	40	5,00E+06	6,70		
	11	3	10000	38	50	4,40E+06	6,64		
	12		10000	60	52	5,60E+06	6,75		
	13		10000	38	63	5,05E+06	6,70		
	14		10000	50	40	4,50E+06	6,65		
	15		10000	53	60	5,65E+06	6,75		
	16	4	10000	70	57	6,35E+06	6,80		
	17		10000	56	68	6,20E+06	6,79		
	18		10000	58	64	6,10E+06	6,79		
	19		10000	44	50	4,70E+06	6,67		
	20		10000	39	48	4,35E+06	6,64		
	21	5	10000	62	81	7,15E+06	6,85		
	22		10000	45	39	4,20E+06	6,62		
	23		10000	97	80	8,85E+06	6,95		
	24		10000	66	70	6,80E+06	6,83		
	25		10000	54	50	5,20E+06	6,72		
	26	6	10000	70	68	6,90E+06	6,84		
	27		10000	63	48	5,55E+06	6,74		
	28		10000	60	57	5,85E+06	6,77		
	29		10000	90	76	8,30E+06	6,92		
	30		10000	71	56	6,35E+06	6,80		

Tabla 9.13. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido láctico (AL).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
AL	1	1	10000	59	66	6,25E+06	6,80	6,47	0,22
	2		10000	36	31	3,35E+06	6,53		
	3		10000	68	92	8,00E+06	6,90		
	4		10000	36	91	6,35E+06	6,80		
	5		10000	30	76	5,30E+06	6,72		
	6	2	1000	150	132	1,41E+06	6,15		
	7		1000	135	140	1,38E+06	6,14		
	8		1000	112	311	2,12E+06	6,33		
	9		1000	164	124	1,44E+06	6,16		
	10		1000	180	160	1,70E+06	6,23		
	11	3	10000	20	18	1,90E+06	6,28		
	12		10000	26	15	2,05E+06	6,31		
	13		10000	46	10	2,80E+06	6,45		
	14		10000	32	40	3,60E+06	6,56		
	15		10000	55	48	5,15E+06	6,71		
	16	4	10000	47	71	5,90E+06	6,77		
	17		10000	26	39	3,25E+06	6,51		
	18		10000	54	59	5,65E+06	6,75		
	19		10000	38	35	3,65E+06	6,56		
	20		10000	60	74	6,70E+06	6,83		
	21	5	1000	112	196	1,54E+06	6,19		
	22		1000	209	240	2,25E+06	6,35		
	23		1000	211	172	1,92E+06	6,28		
	24		1000	218	240	2,29E+06	6,36		
	25		1000	220	223	2,22E+06	6,35		
	26	6	1000	274	276	2,75E+06	6,44		
	27		1000	225	240	2,33E+06	6,37		
	28		1000	256	260	2,58E+06	6,41		
	29		1000	278	284	2,81E+06	6,45		
	30		1000	293	292	2,93E+06	6,47		

Tabla 9.14. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con agua electroactivada (AE).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
AE	1	1	10000	90	87	8,85E+06	6,95	6,76	0,22
	2		10000	133	46	8,95E+06	6,95		
	3		10000	109	85	9,70E+06	6,99		
	4		10000	64	109	8,65E+06	6,94		
	5		10000	80	76	7,80E+06	6,89		
	6	2	10000	20	18	1,90E+06	6,28		
	7		10000	32	42	3,70E+06	6,57		
	8		10000	40	37	3,85E+06	6,59		
	9		1000	150	120	1,35E+06	6,13		
	10		10000	43	39	4,10E+06	6,61		
	11	3	10000	46	44	4,50E+06	6,65		
	12		10000	54	55	5,45E+06	6,74		
	13		10000	58	62	6,00E+06	6,78		
	14		10000	57	57	5,70E+06	6,76		
	15	4	10000	47	32	3,95E+06	6,60		
	16		10000	83	77	8,00E+06	6,90		
	17		10000	98	92	9,50E+06	6,98		
	18		10000	59	77	6,80E+06	6,83		
	19		10000	110	90	1,00E+07	7,00		
	20	5	10000	73	68	7,05E+06	6,85		
	21		10000	31	27	2,90E+06	6,46		
	22		10000	39	35	3,70E+06	6,57		
	23		10000	40	50	4,50E+06	6,65		
	24		10000	77	82	7,95E+06	6,90		
	25	6	10000	67	68	6,75E+06	6,83		
	26		10000	54	54	5,40E+06	6,73		
	27		10000	104	104	1,04E+07	7,02		
	28		10000	82	82	8,20E+06	6,91		
	29		10000	90	90	9,00E+06	6,95		
	30		10000	60	60	6,00E+06	6,78		

Tabla 9.15. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido peroxiacético (AP).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
AP	1	1	10000	77	69	7,30E+06	6,86	6,61	0,22
	2		10000	61	74	6,75E+06	6,83		
	3		10000	31	37	3,40E+06	6,53		
	4		10000	76	56	6,60E+06	6,82		
	5		10000	45	61	5,30E+06	6,72		
	6	2	1000	119	136	1,28E+06	6,11		
	7		1000	340	134	2,37E+06	6,37		
	8		1000	144	148	1,46E+06	6,16		
	9		1000	125	246	1,86E+06	6,27		
	10		10000	46	22	3,40E+06	6,53		
	11	3	10000	32	39	3,55E+06	6,55		
	12		10000	62	35	4,85E+06	6,69		
	13		10000	26	20	2,30E+06	6,36		
	14		10000	38	27	3,25E+06	6,51		
	15	4	10000	52	59	5,55E+06	6,74		
	16		10000	68	79	7,35E+06	6,87		
	17		10000	74	53	6,35E+06	6,80		
	18		10000	38	32	3,50E+06	6,54		
	19		10000	69	61	6,50E+06	6,81		
	20	5	10000	72	80	7,60E+06	6,88		
	21		1000	223	209	2,16E+06	6,33		
	22		10000	46	48	4,70E+06	6,67		
	23		10000	43	31	3,70E+06	6,57		
	24		10000	49	43	4,60E+06	6,66		
	25	6	10000	41	31	3,60E+06	6,56		
	26		10000	48	36	4,20E+06	6,62		
	27		10000	80	80	8,00E+06	6,90		
	28		10000	26	26	2,60E+06	6,41		
	29		10000	36	104	7,00E+06	6,85		
	30	10000	43	43	4,30E+06	6,63			

Tabla 9.16. Recuentos en agar Tipticasa Soja (TSA) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido caprílico (AC).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
AC	1	1	1000	118	118	1,18E+06	6,07	5,99	0,24
	2		1000	146	162	1,54E+06	6,19		
	3		1000	150	147	1,49E+06	6,17		
	4		1000	169	162	1,66E+06	6,22		
	5		1000	209	210	2,10E+06	6,32		
	6	2	1000	95	66	8,05E+05	5,91		
	7		1000	36	31	3,35E+05	5,53		
	8		1000	86	92	8,90E+05	5,95		
	9		1000	36	91	6,35E+05	5,80		
	10		1000	30	76	5,30E+05	5,72		
	11	3	1000	33	29	3,10E+05	5,49		
	12		1000	89	100	9,45E+05	5,98		
	13		1000	100	108	1,04E+06	6,02		
	14		1000	266	220	2,43E+06	6,39		
	15	4	1000	163	76	1,20E+06	6,08		
	16		1000	158	159	1,59E+06	6,20		
	17		1000	170	163	1,67E+06	6,22		
	18		1000	81	107	9,40E+05	5,97		
	19		1000	100	172	1,36E+06	6,13		
	20	5	1000	63	76	6,95E+05	5,84		
	21		1000	64	36	500000	5,70		
	22		100	288	233	260500	5,42		
	23		1000	98	91	945000	5,98		
	24		1000	103	115	1090000	6,04		
	25	6	1000	90	99	945000	5,98		
	26		1000	205	159	1820000	6,26		
	27		1000	164	201	1825000	6,26		
	28		1000	87	91	890000	5,95		
	29		1000	72	65	685000	5,84		
	30		1000	85	99	920000	5,96		

Tabla 9.17. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC agua (diluyente de ácido láctico, peroxiacético y agua electroactivada).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
Agua	1	1	10000	89	95	9,20E+06	6,96	6,72	0,22
	2		10000	45	64	5,45E+06	6,74		
	3		10000	62	66	6,40E+06	6,81		
	4		10000	56	83	6,95E+06	6,84		
	5		10000	89	70	7,95E+06	6,90		
	6	2	10000	26	28	2,70E+06	6,43		
	7		10000	29	35	3,20E+06	6,51		
	8		10000	35	25	3,00E+06	6,48		
	9		10000	25	20	2,25E+06	6,35		
	10	3	10000	15	26	2,05E+06	6,31		
	11		10000	39	21	3,00E+06	6,48		
	12		10000	39	34	3,65E+06	6,56		
	13		10000	22	22	2,20E+06	6,34		
	14		10000	24	26	2,50E+06	6,40		
	15	4	10000	38	35	3,65E+06	6,56		
	16		10000	68	79	7,35E+06	6,87		
	17		10000	88	95	9,15E+06	6,96		
	18		10000	95	74	8,45E+06	6,93		
	19		10000	97	65	8,10E+06	6,91		
	20	5	10000	69	78	7,35E+06	6,87		
	21		10000	70	61	6,55E+06	6,82		
	22		10000	31	33	3,20E+06	6,51		
	23		10000	74	66	7,00E+06	6,85		
	24		10000	67	83	7,50E+06	6,88		
	25	6	10000	67	75	7,10E+06	6,85		
	26		10000	71	85	7,80E+06	6,89		
	27		10000	83	71	7,70E+06	6,89		
	28		10000	86	90	8,80E+06	6,94		
	29		10000	84	88	8,60E+06	6,93		
	30		10000	78	68	7,30E+06	6,86		

Tabla 9.18. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con etanol 95% (diluyente de ácido caprílico)

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
Etanol 95%	1	1	10000	78	58	6,80E+06	6,83	6,68	0,24
	2		10000	70	99	8,45E+06	6,93		
	3		10000	88	91	8,95E+06	6,95		
	4		10000	58	65	6,15E+06	6,79		
	5		10000	50	60	5,50E+06	6,74		
	6	2	1000	150	180	1,65E+06	6,22		
	7		1000	210	230	2,20E+06	6,34		
	8		1000	150	120	1,35E+06	6,13		
	9		1000	253	210	2,32E+06	6,36		
	10	3	1000	280	219	2,50E+06	6,40		
	11		10000	34	25	2,95E+06	6,47		
	12		10000	30	45	3,75E+06	6,57		
	13		10000	32	30	3,10E+06	6,49		
	14		10000	64	40	5,20E+06	6,72		
	15	4	10000	28	64	4,60E+06	6,66		
	16		10000	88	59	7,35E+06	6,87		
	17		10000	67	59	6,30E+06	6,80		
	18		10000	38	32	3,50E+06	6,54		
	19		10000	45	40	4,25E+06	6,63		
	20	5	10000	58	50	5,40E+06	6,73		
	21		10000	110	128	1,19E+07	7,08		
	22		10000	38	41	3,95E+06	6,60		
	23		10000	100	126	1,13E+07	7,05		
	24		10000	72	65	6,85E+06	6,84		
	25	6	10000	55	49	5,20E+06	6,72		
	26		10000	34	44	3,90E+06	6,59		
	27		10000	82	92	8,70E+06	6,94		
	28		10000	90	100	9,50E+06	6,98		
	29		10000	74	80	7,70E+06	6,89		
	30	10000	50	47	4,85E+06	6,69			

Tabla 9.19. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido láctico (AL).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
AL	1	1	10000	27	36	3,15E+06	6,50	6,20	0,27
	2		10000	36	45	4,05E+06	6,61		
	3		10000	33	41	3,70E+06	6,57		
	4		10000	28	36	3,20E+06	6,51		
	5		10000	29	42	3,55E+06	6,55		
	6	2	1000	90	58	7,40E+05	5,87		
	7		1000	98	68	8,30E+05	5,92		
	8		1000	98	86	9,20E+05	5,96		
	9		1000	76	76	7,60E+05	5,88		
	10	3	1000	84	60	7,20E+05	5,86		
	11		1000	180	249	2,15E+06	6,33		
	12		1000	218	204	2,11E+06	6,32		
	13	3	1000	100	104	1,02E+06	6,01		
	14		1000	109	101	1,05E+06	6,02		
	15	4	1000	96	90	9,30E+05	5,97		
	16		10000	17	29	2,30E+06	6,36		
	17		10000	58	45	5,15E+06	6,71		
	18		10000	34	19	2,65E+06	6,42		
	19		10000	19	23	2,10E+06	6,32		
	20	5	10000	50	39	4,45E+06	6,65		
	21		1000	97	51	7,40E+05	5,87		
	22		1000	63	68	6,55E+05	5,82		
	23		1000	153	143	1,48E+06	6,17		
	24		1000	48	105	7,65E+05	5,88		
	25	6	1000	149	50	9,95E+05	6,00		
	26		1000	180	176	1,78E+06	6,25		
	27		1000	125	140	1,33E+06	6,12		
	28		1000	159	160	1,60E+06	6,20		
	29		1000	148	148	1,48E+06	6,17		
	30	1000	152	145	1,49E+06	6,17			

Tabla 9.20. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con agua electroactivada (AE).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
AE	1	1	10000	78	61	6,95E+06	6,84	6,63	0,20
	2		10000	90	84	8,70E+06	6,94		
	3		10000	75	92	8,35E+06	6,92		
	4		10000	77	65	7,10E+06	6,85		
	5		10000	62	74	6,80E+06	6,83		
	6	2	1000	179	174	1,77E+06	6,25		
	7		1000	232	242	2,37E+06	6,37		
	8		1000	240	237	2,39E+06	6,38		
	9		1000	215	236	2,26E+06	6,35		
	10	3	1000	243	239	2,41E+06	6,38		
	11		10000	31	30	3,05E+06	6,48		
	12		10000	29	31	3,00E+06	6,48		
	13		10000	33	34	3,35E+06	6,53		
	14		10000	32	33	3,25E+06	6,51		
	15	4	10000	34	35	3,45E+06	6,54		
	16		10000	74	46	6,00E+06	6,78		
	17		10000	62	38	5,00E+06	6,70		
	18		10000	30	31	3,05E+06	6,48		
	19		10000	53	42	4,75E+06	6,68		
	20	5	10000	56	46	5,10E+06	6,71		
	21		10000	35	18	2,65E+06	6,42		
	22		10000	24	33	2,85E+06	6,45		
	23		10000	38	41	3,95E+06	6,60		
	24		10000	61	56	5,85E+06	6,77		
	25	6	10000	50	40	4,50E+06	6,65		
	26		10000	33	40	3,65E+06	6,56		
	27		10000	81	95	8,80E+06	6,94		
	28		10000	82	76	7,90E+06	6,90		
	29		10000	44	38	4,10E+06	6,61		
	30	10000	66	74	7,00E+06	6,85			

Tabla 9.21. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido peroxiacético (AP).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
AP	1	1	1000	175	191	1,83E+06	6,26	6,20	0,20
	2		1000	168	159	1,64E+06	6,21		
	3		1000	162	140	1,51E+06	6,18		
	4		1000	193	151	1,72E+06	6,24		
	5		1000	240	222	2,31E+06	6,36		
	6	2	1,00E+03	102	75	8,85E+05	5,95		
	7		1,00E+03	80	131	1,06E+06	6,02		
	8		1,00E+03	77	92	8,45E+05	5,93		
	9		1,00E+03	135	82	1,09E+06	6,04		
	10	3	1,00E+03	77	87	8,20E+05	5,91		
	11		1,00E+03	113	272	1,93E+06	6,28		
	12		1,00E+03	177	161	1,69E+06	6,23		
	13	4	1,00E+03	166	104	1,35E+06	6,13		
	14		1,00E+03	238	205	2,22E+06	6,35		
	15		1,00E+03	245	168	2,07E+06	6,31		
	16		1,00E+03	228	215	2,22E+06	6,35		
	17	5	1,00E+03	253	252	2,53E+06	6,40		
	18		1,00E+03	256	254	2,55E+06	6,41		
	19		1,00E+03	292	271	2,82E+06	6,45		
	20		1,00E+03	245	235	2,40E+06	6,38		
	21	6	1,00E+03	57	91	7,40E+05	5,87		
	22		1,00E+03	68	59	6,35E+05	5,80		
	23		1,00E+03	79	40	5,95E+05	5,77		
	24		1,00E+03	165	151	1,58E+06	6,20		
	25	6	1,00E+03	229	222	2,26E+06	6,35		
	26		1,00E+04	28	23	2,55E+06	6,41		
	27		1,00E+04	23	25	2,40E+06	6,38		
	28		1,00E+03	168	175	1,72E+06	6,23		
	29		1,00E+03	145	132	1,39E+06	6,14		
	30		1,00E+04	25	23	2,40E+06	6,38		

Tabla 9.22. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de corte entero inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido caprílico (AC).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío
AC	1	1	1000	53	62	5,75E+05	5,76	5,61	0,29
	2		1000	61	95	7,80E+05	5,89		
	3		1000	68	49	5,85E+05	5,77		
	4		1000	48	69	5,85E+05	5,77		
	5		1000	67	46	5,65E+05	5,75		
	6	2	100	147	130	1,39E+05	5,14		
	7		100	149	55	1,02E+05	5,01		
	8		100	162	116	1,39E+05	5,14		
	9		100	173	132	1,53E+05	5,18		
	10	3	1000	39	40	3,95E+05	5,60		
	11		100	332	325	3,29E+05	5,52		
	12		100	328	335	3,32E+05	5,52		
	13	3	100	304	301	3,03E+05	5,48		
	14		100	314	318	3,16E+05	5,50		
	15	4	100	341	326	3,34E+05	5,52		
	16		1000	68	53	6,05E+05	5,78		
	17		1000	78	63	7,05E+05	5,85		
	18		1000	60	93	7,65E+05	5,88		
	19		1000	42	35	3,85E+05	5,59		
	20	5	1000	71	54	6,25E+05	5,80		
	21		1000	55	62	5,85E+05	5,77		
	22		100	210	195	2,03E+05	5,31		
	23		100	60	100	8,00E+04	4,90		
	24		1000	77	69	7,30E+05	5,86		
	25	6	1000	67	46	5,65E+05	5,75		
	26		1000	79	69	7,40E+05	5,87		
	27		1000	79	65	7,20E+05	5,86		
	28		1000	70	74	7,20E+05	5,86		
	29		1000	34	44	3,90E+05	5,59		
	30	1000	85	90	8,75E+05	5,94			

Tabla 9.23. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes control inoculados con una alta concentración de STEC.

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
Control	1	1	10000	120	104	1,12E+07	7,05	7,14	0,11
	2		10000	89	84	8,65E+06	6,94		
	3		10000	103	96	9,95E+06	7,00		
	4		10000	98	83	9,05E+06	6,96		
	5		10000	101	100	1,01E+07	7,00		
	6	2	10000	119	97	1,08E+07	7,03		
	7		10000	136	134	1,35E+07	7,13		
	8		10000	115	120	1,18E+07	7,07		
	9		10000	124	135	1,30E+07	7,11		
	10	3	10000	113	123	1,18E+07	7,07		
	11		10000	145	133	1,39E+07	7,14		
	12		10000	123	120	1,22E+07	7,08		
	13	3	10000	133	125	1,29E+07	7,11		
	14		10000	136	144	1,40E+07	7,15		
	15		10000	143	159	1,51E+07	7,18		
	16	4	10000	143	135	1,39E+07	7,14		
	17		10000	152	128	1,40E+07	7,15		
	18		10000	153	137	1,45E+07	7,16		
	19		10000	153	138	1,46E+07	7,16		
	20	5	10000	178	157	1,68E+07	7,22		
	21		10000	218	136	1,77E+07	7,25		
	22		10000	228	230	2,29E+07	7,36		
	23		10000	185	177	1,81E+07	7,26		
	24		10000	134	232	1,83E+07	7,26		
	25	6	10000	277	275	2,76E+07	7,44		
	26		10000	144	135	1,40E+07	7,14		
	27		10000	139	171	1,55E+07	7,19		
	28		10000	127	160	1,44E+07	7,16		
	29		10000	164	173	1,69E+07	7,23		
	30	10000	134	170	1,52E+07	7,18			

Tabla 9.24. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con ácido láctico al 0,5% (AL 0,5%).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
AL (0,5%)	1	1	10000	71	69	7,00E+06	6,85	7,01	0,10
	2		10000	75	88	8,15E+06	6,91		
	3		10000	72	62	6,70E+06	6,83		
	4		10000	61	81	7,10E+06	6,85		
	5		10000	63	82	7,25E+06	6,86		
	6	2	10000	91	89	9,00E+06	6,95		
	7		10000	107	102	1,05E+07	7,02		
	8		10000	116	98	1,07E+07	7,03		
	9		10000	93	99	9,60E+06	6,98		
	10	3	10000	90	107	9,85E+06	6,99		
	11		10000	85	85	8,50E+06	6,93		
	12		10000	78	94	8,60E+06	6,93		
	13	4	10000	103	118	1,11E+07	7,04		
	14		10000	78	68	7,30E+06	6,86		
	15		10000	77	106	9,15E+06	6,96		
	16	5	10000	120	134	1,27E+07	7,10		
	17		10000	109	104	1,07E+07	7,03		
	18		10000	112	137	1,25E+07	7,10		
	19		10000	102	97	9,95E+06	7,00		
	20	6	10000	91	96	9,35E+06	6,97		
	21		10000	166	139	1,53E+07	7,18		
	22		10000	162	150	1,56E+07	7,19		
	23		10000	122	131	1,27E+07	7,10		
	24		10000	136	126	1,31E+07	7,12		
	25	6	10000	127	109	1,18E+07	7,07		
	26		10000	118	96	1,07E+07	7,03		
	27		10000	116	116	1,16E+07	7,06		
	28		10000	95	94	9,45E+06	6,98		
	29		10000	107	96	1,02E+07	7,01		
	30	10000	147	192	1,70E+07	7,23			

Tabla 9.25. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con ácido caprílico 0,04 % (AC 0,04%)

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
AC 0,04%	1	1	1000	636	520	5,78E+06	6,76	7,13	0,26
	2		1000	636	528	5,82E+06	6,76		
	3		1000	408	382	3,95E+06	6,60		
	4		1000	504	416	4,60E+06	6,66		
	5		1000	524	340	4,32E+06	6,64		
	6	2	10000	103	128	1,16E+07	7,06		
	7		10000	148	159	1,54E+07	7,19		
	8		10000	141	113	1,27E+07	7,10		
	9		10000	99	119	1,09E+07	7,04		
	10		10000	123	102	1,13E+07	7,05		
	11	3	10000	101	108	1,05E+07	7,02		
	12		10000	99	122	1,11E+07	7,04		
	13		10000	96	85	9,05E+06	6,96		
	14		10000	111	110	1,11E+07	7,04		
	15		10000	121	110	1,16E+07	7,06		
	16	4	10000	183	153	1,68E+07	7,23		
	17		10000	126	109	1,18E+07	7,07		
	18		10000	179	161	1,70E+07	7,23		
	19		10000	130	153	1,42E+07	7,15		
	20		10000	155	134	1,45E+07	7,16		
	21	5	10000	330	358	3,44E+07	7,54		
	22		10000	245	267	2,56E+07	7,41		
	23		10000	320	372	3,46E+07	7,54		
	24		10000	238	206	2,22E+07	7,35		
	25		10000	272	295	2,84E+07	7,45		
	26	6	10000	220	220	2,20E+07	7,34		
	27		10000	171	201	1,86E+07	7,27		
	28		10000	216	221	2,19E+07	7,34		
	29		10000	336	302	3,19E+07	7,50		
	30		10000	229	238	2,34E+07	7,37		

Tabla 926. Recuentos en agar Trypticase Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
BDI	1	1	100	65	52	5,85E+04	4,77	5,75	0,34
	2		1000	23	26	2,45E+05	5,39		
	3		1000	24	27	2,55E+05	5,41		
	4		1000	36	33	3,45E+05	5,54		
	5		1000	23	20	2,15E+05	5,33		
	6	2	1000	59	58	5,85E+05	5,77		
	7		1000	132	122	1,27E+06	6,10		
	8		1000	53	44	4,85E+05	5,69		
	9		1000	35	86	6,05E+05	5,78		
	10	3	1000	38	36	3,70E+05	5,57		
	11		1000	107	148	1,28E+06	6,11		
	12		1000	30	23	2,65E+05	5,42		
	13	4	1000	35	16	2,55E+05	5,41		
	14		1000	53	49	5,10E+05	5,71		
	15		1000	101	85	9,30E+05	5,97		
	16		100	206	201	2,04E+05	5,31		
	17	5	1000	46	51	4,85E+05	5,69		
	18		1000	41	42	4,15E+05	5,62		
	19		1000	74	74	7,40E+05	5,87		
	20		1000	37	34	3,55E+05	5,55		
	21	6	1000	143	125	1,34E+06	6,13		
	22		1000	148	180	1,64E+06	6,21		
	23		1000	85	84	8,45E+05	5,93		
	24		1000	173	125	1,49E+06	6,17		
	25		1000	142	154	1,48E+06	6,17		
	26	6	1000	94	97	9,55E+05	5,98		
	27		1000	80	86	8,30E+05	5,92		
	28		1000	129	96	1,13E+06	6,05		
	29		1000	143	136	1,40E+06	6,14		
	30		1000	83	73	7,80E+05	5,89		

Tabla 9.27. Recuentos en agar Trypticase Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy) combinado con ácido láctico 0,5% (AL)

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
BDI + AL	1	1	1000	73	62	6,75E+05	5,83	5,46	0,50
	2		1000	37	24	3,05E+05	5,48		
	3		100	93	75	8,40E+04	4,92		
	4		100	52	51	5,15E+04	4,71		
	5		1000	40	46	4,30E+05	5,63		
	6	2	1000	63	67	6,50E+05	5,81		
	7		1000	90	87	8,85E+05	5,95		
	8		1000	211	209	2,10E+06	6,32		
	9		1000	150	115	1,33E+06	6,12		
	10	3	1000	88	81	8,45E+05	5,93		
	11		1000	62	53	5,75E+05	5,76		
	12		1000	3	6	4,50E+04	4,65		
	13		1000	77	80	7,85E+05	5,89		
	14	4	1000	16	6	1,10E+05	5,04		
	15		1000	42	33	3,75E+05	5,57		
	16		1000	38	38	3,80E+05	5,58		
	17		1000	51	48	4,95E+05	5,69		
	18	5	1000	73	51	6,20E+05	5,79		
	19		100	104	101	1,03E+05	5,01		
	20		100	173	175	1,74E+05	5,24		
	21	6	100	94	82	8,80E+04	4,94		
	22		100	180	147	1,64E+05	5,21		
	23		1000	58	58	5,80E+05	5,76		
	24		1000	51	41	4,60E+05	5,66		
	25	6	100	107	117	1,12E+05	5,05		
	26		100	74	89	8,15E+04	4,91		
	27		100	21	29	2,50E+04	4,40		
	28		1000	76	79	7,75E+05	5,89		
	29		1000	121	122	1,22E+06	6,08		
	30		100	69	66	6,75E+04	4,83		

Tabla 9.28. Recuentos en agar Trypticase Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy) combinado con ácido caprílico 0,04% (AC).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
BDI + AC	1	1	1000	39	48	4,35E+05	5,64	5,77	0,29
	2		1000	45	55	5,00E+05	5,70		
	3		1000	48	32	4,00E+05	5,60		
	4		1000	72	61	6,65E+05	5,82		
	5		1000	94	109	1,02E+06	6,01		
	6	2	1000	42	47	4,45E+05	5,65		
	7		1000	121	96	1,09E+06	6,04		
	8		1000	88	114	1,01E+06	6,00		
	9		1000	75	122	9,85E+05	5,99		
	10	3	1000	109	112	1,11E+06	6,04		
	11		1000	48	45	4,65E+05	5,67		
	12		1000	49	34	4,15E+05	5,62		
	13		1000	21	24	2,25E+05	5,35		
	14	4	1000	72	62	6,70E+05	5,83		
	15		1000	51	29	4,00E+05	5,60		
	16		1000	106	93	9,95E+05	6,00		
	17		1000	149	137	1,43E+06	6,16		
	18		1000	49	38	4,35E+05	5,64		
	19	5	1000	56	41	4,85E+05	5,69		
	20		1000	30	29	2,95E+05	5,47		
	21		1000	53	67	6,00E+05	5,78		
	22		1000	93	107	1,00E+06	6,00		
	23		1000	38	38	3,80E+05	5,58		
	24	6	1000	60	60	6,00E+05	5,78		
	25		1000	134	165	1,50E+06	6,17		
	26		1000	110	100	1,05E+06	6,02		
	27		1000	123	159	1,41E+06	6,15		
	28		100	184	218	2,01E+05	5,30		
	29		1000	111	129	1,20E+06	6,08		
	30	100	84	62	7,30E+04	4,86			

Tabla 9.29. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC tratadas con alta dosis de irradiación (ADI – 2 kGy).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
ADI	1	1	100						
	2		100						
	3		100						
	4		100						
	5		100						
	6	2	100						
	7		100						
	8		100						
	9		100						
	10	3	100						
	11		100						
	12		100						
	13		100						
	14		100						
	15	4	100						
	16		100						
	17		100						
	18		100						
	19	5	100						
	20		100						
	21		100						
	22		100						
	23		100						
	24		100						
	25	6	100						
	26		100						
	27		100						
	28		100						
	29		100						
	30		100						

Tabla 9.30. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes control inoculados con una alta concentración de STEC.

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
control	1	1	10000	23	35	2,90E+06	6,46	6,56	0,27
	2		10000	68	55	6,15E+06	6,79		
	3		10000	19	24	2,15E+06	6,33		
	4		10000	39	23	3,10E+06	6,49		
	5		10000	16	16	1,60E+06	6,20		
	6	2	10000	7	21	1,40E+06	6,15		
	7		10000	23	33	2,80E+06	6,45		
	8		10000	17	33	2,50E+06	6,40		
	9		10000	59	53	5,60E+06	6,75		
	10	3	10000	55	17	3,60E+06	6,56		
	11		10000	23	66	4,45E+06	6,65		
	12		10000	44	58	5,10E+06	6,71		
	13		10000	45	32	3,85E+06	6,59		
	14	4	10000	45	25	3,50E+06	6,54		
	15		10000	5	30	1,75E+06	6,24		
	16		10000	105	29	6,70E+06	6,83		
	17		10000	34	15	2,45E+06	6,39		
	18		10000	35	38	3,65E+06	6,56		
	19	5	10000	119	84	1,02E+07	7,01		
	20		10000	104	130	1,17E+07	7,07		
	21		10000	27	7	1,70E+06	6,23		
	22		10000	49	51	5,00E+06	6,70		
	23		10000	86	27	5,65E+06	6,75		
	24		10000	70	91	8,05E+06	6,91		
	25	6	10000	134	152	1,43E+07	7,16		
	26		10000	17	51	3,40E+06	6,53		
	27		10000	40	22	3,10E+06	6,49		
	28		10000	21	20	2,05E+06	6,31		
	29		10000	10	17	1,35E+06	6,13		
	30		10000	31	36	3,35E+06	6,53		

Tabla 9.31. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido láctico 0,5% (AL).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
AL	1	1	10000	46	50	4,80E+06	6,68	6,57	0,31
	2		10000	35	57	4,60E+06	6,66		
	3		10000	45	59	5,20E+06	6,72		
	4		10000	34	26	3,00E+06	6,48		
	5		10000	42	57	4,95E+06	6,69		
	6	2	10000	61	29	4,50E+06	6,65		
	7		10000	76	72	7,40E+06	6,87		
	8		10000	74	72	7,30E+06	6,86		
	9		10000	71	52	6,15E+06	6,79		
	10	3	10000	60	73	6,65E+06	6,82		
	11		10000	56	74	6,50E+06	6,81		
	12		10000	35	44	3,95E+06	6,60		
	13	4	10000	54	27	4,05E+06	6,61		
	14		10000	46	68	5,70E+06	6,76		
	15		10000	69	74	7,15E+06	6,85		
	16		10000	85	87	8,60E+06	6,93		
	17	5	10000	53	70	6,15E+06	6,79		
	18		10000	78	48	6,30E+06	6,80		
	19		10000	32	46	3,90E+06	6,59		
	20		10000	74	59	6,65E+06	6,82		
	21	6	10000	33	76	5,45E+06	6,74		
	22		10000	25	9	1,70E+06	6,23		
	23		10000	24	10	1,70E+06	6,23		
	24		10000	10	9	9,50E+05	5,98		
	25	6	10000	20	22	2,10E+06	6,32		
	26		10000	12	23	1,75E+06	6,24		
	27		10000	28	56	4,20E+06	6,62		
	28		10000	26	29	2,75E+06	6,44		
	29		10000	9	7	8,00E+05	5,90		
	30	10000	5	6	5,50E+05	5,74			

Tabla 9.32. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con ácido caprílico 0,04% (AC).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
AC	1	1	1000	437	437	4,37E+06	6,64	6,75	0,27
	2		1000	590	440	5,15E+06	6,71		
	3		1000	460	354	4,07E+06	6,61		
	4		1000	389	381	3,85E+06	6,59		
	5		1000	429	536	4,83E+06	6,68		
	6	2	10000	68	64	6,60E+06	6,82		
	7		10000	90	75	8,25E+06	6,92		
	8		10000	88	104	9,60E+06	6,98		
	9		10000	88	116	1,02E+07	7,01		
	10		10000	63	88	7,55E+06	6,88		
	11	3	10000	36	40	3,80E+06	6,58		
	12		10000	49	52	5,05E+06	6,70		
	13		10000	48	87	6,75E+06	6,83		
	14		10000	77	91	8,40E+06	6,92		
	15		10000	86	93	8,95E+06	6,95		
	16	4	10000	122	9	6,55E+06	6,82		
	17		10000	46	40	4,30E+06	6,63		
	18		10000	32	19	2,55E+06	6,41		
	19		10000	23	22	2,25E+06	6,35		
	20		10000	39	22	3,05E+06	6,48		
	21	5	10000	164	99	1,32E+07	7,12		
	22		10000	167	139	1,53E+07	7,18		
	23		10000	150	197	1,74E+07	7,24		
	24		10000	191	172	1,82E+07	7,26		
	25		10000	129	112	1,21E+07	7,08		
	26	6	10000	17	24	2,05E+06	6,31		
	27		10000	47	14	3,05E+06	6,48		
	28		10000	16	46	3,10E+06	6,49		
	29		10000	30	14	2,20E+06	6,34		
	30		10000	37	43	4,00E+06	6,60		

Tabla 9.33. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
BDI	1	1	100	56	35	4,55E+04	4,66	5,40	0,26
	2		1000	20	30	2,50E+05	5,40		
	3		1000	23	27	2,50E+05	5,40		
	4		1000	28	27	2,75E+05	5,44		
	5		100	103	119	1,11E+05	5,05		
	6	2	1000	40	41	4,05E+05	5,61		
	7		1000	68	113	9,05E+05	5,96		
	8		1000	31	27	2,90E+05	5,46		
	9		1000	29	22	2,55E+05	5,41		
	10		1000	30	22	2,60E+05	5,41		
	11	3	1000	78	109	9,35E+05	5,97		
	12		1000	17	20	1,85E+05	5,27		
	13		1000	33	24	2,85E+05	5,45		
	14		1000	12	33	2,25E+05	5,35		
	15	4	1000	42	47	4,45E+05	5,65		
	16		100	150	123	1,37E+05	5,14		
	17		100	359	357	3,58E+05	5,55		
	18		100	234	287	2,61E+05	5,42		
	19		100	378	336	3,57E+05	5,55		
	20	5	100	183	173	1,78E+05	5,25		
	21		1000	38	28	3,30E+05	5,52		
	22		1000	40	29	3,45E+05	5,54		
	23		1000	25	29	2,70E+05	5,43		
	24		1000	14	33	2,35E+05	5,37		
	25	6	1000	24	27	2,55E+05	5,41		
	26		1000	24	35	2,95E+05	5,47		
	27		1000	14	11	1,25E+05	5,10		
	28		1000	31	16	2,35E+05	5,37		
	29		1000	21	22	2,15E+05	5,33		
	30		1000	11	7	9,00E+04	4,95		

Tabla 9.34. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy) combinado con ácido láctico 0,5% (AL).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
BDI + AL	1	1	1000	43	62	5,25E+05	5,72	5,01	0,58
	2		1000	24	24	2,40E+05	5,38		
	3		100	44	63	5,35E+04	4,73		
	4		100	27	29	2,80E+04	4,45		
	5		1000	34	18	2,60E+05	5,41		
	6	2	1000	34	26	3,00E+05	5,48		
	7		1000	63	66	6,45E+05	5,81		
	8		1000	142	153	1,48E+06	6,17		
	9		1000	77	85	8,10E+05	5,91		
	10	3	1000	75	55	6,50E+05	5,81		
	11		1000	18	18	1,80E+05	5,26		
	12		1000	2	1	1,50E+04	4,18		
	13		1000	28	7	1,75E+05	5,24		
	14	4	1000	2	4	3,00E+04	4,48		
	15		1000	14	3	8,50E+04	4,93		
	16		100	186	84	1,35E+05	5,13		
	17		1000	25	27	2,60E+05	5,41		
	18		1000	20	20	2,00E+05	5,30		
	19	5	100	75	69	7,20E+04	4,86		
	20		100	64	65	6,45E+04	4,81		
	21		100	39	42	4,05E+04	4,61		
	22		100	79	57	6,80E+04	4,83		
	23		100	64	61	6,25E+04	4,80		
	24	6	100	120	82	1,01E+05	5,00		
	25		100	20	22	2,10E+04	4,32		
	26		100	41	7	2,40E+04	4,38		
	27		100	4	4	4,00E+03	3,60		
	28		100	122	71	9,65E+04	4,98		
	29		100	64	55	5,95E+04	4,77		
	30	100	37	23	3,00E+04	4,48			

Tabla 9.35. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con baja dosis de irradiación (BDI – 0,5 kGy) combinado con ácido caprílico 0,04% (AC).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
BDI + AC	1	1	1000	40	27	3,35E+05	5,53	5,43	0,34
	2		1000	31	33	3,20E+05	5,51		
	3		1000	22	20	2,10E+05	5,32		
	4		1000	32	28	3,00E+05	5,48		
	5		100	62	64	6,30E+04	4,80		
	6	2	1000	35	34	3,45E+05	5,54		
	7		1000	76	89	8,25E+05	5,92		
	8		1000	79	78	7,85E+05	5,89		
	9		1000	81	97	8,90E+05	5,95		
	10	3	1000	68	73	7,05E+05	5,85		
	11		1000	8	23	1,55E+05	5,19		
	12		1000	30	27	2,85E+05	5,45		
	13		1000	14	8	1,10E+05	5,04		
	14	4	1000	47	50	4,85E+05	5,69		
	15		1000	9	11	1,00E+05	5,00		
	16		1000	38	58	4,80E+05	5,68		
	17		1000	90	93	9,15E+05	5,96		
	18	5	100	213	218	2,16E+05	5,33		
	19		1000	33	41	3,70E+05	5,57		
	20		100	117	135	1,26E+05	5,10		
	21	6	100	152	212	1,82E+05	5,26		
	22		100	274	336	3,05E+05	5,48		
	23		100	193	167	1,80E+05	5,26		
	24		100	252	210	2,31E+05	5,36		
	25	6	100	283	324	3,04E+05	5,48		
	26		100	297	212	2,55E+05	5,41		
	27		100	430	640	5,35E+05	5,73		
	28		100	103	93	9,80E+04	4,99		
	29		100	410	318	3,64E+05	5,56		
	30	100	40	49	4,45E+04	4,65			

Tabla 9.36. Recuentos en agar MacConkey (MAC) de las muestras de recortes inoculados con una alta concentración de STEC y tratadas con alta dosis de irradiación (ADI – 2 kGy).

Tratamiento	Número de muestra	Número de repetición	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
ADI	1	1	100						
	2		100						
	3		100						
	4		100						
	5		100						
	6	2	100						
	7		100						
	8		100						
	9		100						
	10	3	100						
	11		100						
	12		100						
	13	4	100						
	14		100						
	15		100						
	16		100						
	17	5	100						
	18		100						
	19		100						
	20		100						
	21		100						
	22	6	100						
	23		100						
	24		100						
	25		100						
	26		100						
	27		100						
	28		100						
	29		100						
	30		100						

Tabla 9.37. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O26 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy).

Cepa	Número de muestra	Número de repetición	Dosis absorbida promedio	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
O26	1	1	0	10000	237	237	2,37E+07	7,37	7,15	0,34
	2			10000	143	202	1,73E+07	7,24		
	3			10000	222	220	2,21E+07	7,34		
	4	2		10000	214	260	2,37E+07	7,37		
	5			10000	237	228	2,33E+07	7,37		
	6			10000	178	164	1,71E+07	7,23		
	7	3		10000	140	154	1,47E+07	7,17		
	8			10000	23	17	2,00E+06	6,30		
	9			10000	69	120	9,45E+06	6,98		
	1	1	0,26	1000	63	66	6,45E+05	5,81	5,44	0,45
	2			1000	9	5	7,00E+04	4,85		
	3			1000	10	5	7,50E+04	4,88		
	4	2		1000	49	37	4,30E+05	5,63		
	5			1000	7	9	8,00E+04	4,90		
	6			1000	110	98	1,04E+06	6,02		
	7	3		1000	44	31	3,75E+05	5,57		
	8			1000	44	51	4,75E+05	5,68		
	9			1000	72	18	4,50E+05	5,65		
	1	1	0,44	100	38	50	4,40E+04	4,64	4,00	0,73
	2			100	1	1	1,00E+03	3,00		
	3			100	1	1	1,00E+03	3,00		
	4	2		100	15	3	9,00E+03	3,95		
	5			100	20	16	1,80E+04	4,26		
	6			100	34	21	2,75E+03	3,44		
	7	3		100	37	55	4,60E+04	4,66		
	8			100	120	123	1,22E+04	4,08		
	9			100	107	89	9,80E+04	4,99		
1	1	0,67	10	2	0,1	1,05E+02	2,02	3,32	0,96	
2			10	1	1	1,00E+02	2,00			
3			10	27	27	2,70E+03	3,43			
4	2		10	4	2	3,00E+02	2,48			
5			10	21	18	1,95E+03	3,29			
6			10	150	120	1,35E+04	4,13			
7	3		10	240	289	2,65E+04	4,42			
8			10	261	252	2,57E+04	4,41			
9			10	47	53	5,00E+03	3,70			

Tabla 9.38. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O103 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy).

Cepa	Número de muestra	Número de repetición	Dosis absorbida promedio	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
O103	1	1	0	10000	122	148	1,35E+07	7,13	7,14	0,27
	2		0	10000	232	238	2,35E+07	7,37		
	3		0	10000	152	201	1,77E+07	7,25		
	4	2	0	10000	280	241	2,61E+07	7,42		
	5		0	10000	271	210	2,41E+07	7,38		
	6		0	10000	58	55	5,65E+06	6,75		
	7	3	0	10000	60	52	5,60E+06	6,75		
	8		0	10000	180	220	2,00E+07	7,30		
	9		0	10000	71	78	7,45E+06	6,87		
	1	1	0,26	1000	51	46	4,85E+05	5,69	5,67	0,34
	2		0,26	1000	32	60	4,60E+05	5,66		
	3		0,26	1000	103	118	1,11E+06	6,04		
	4	2	0,26	1000	107	100	1,04E+06	6,01		
	5		0,26	1000	75	81	7,80E+05	5,89		
	6		0,26	1000	16	16	1,60E+05	5,20		
	7	3	0,26	1000	13	10	1,15E+05	5,06		
	8		0,26	1000	43	58	5,05E+05	5,70		
	9		0,26	1000	52	54	5,30E+05	5,72		
	1	1	0,44	100	0	1	5,00E+02	2,70	4,47	1,35
	2		0,44	100	0	1	5,00E+02	2,70		
	3		0,44	100	180	175	1,78E+05	5,25		
	4	2	0,44	100	0	1	5,00E+02	2,70		
	5		0,44	100	140	168	1,54E+05	5,19		
	6		0,44	1000	16	16	1,60E+05	5,20		
	7	3	0,44	1000	13	10	1,15E+05	5,06		
	8		0,44	1000	43	58	5,05E+05	5,70		
	9		0,44	1000	52	54	5,30E+05	5,72		
1	1	0,67	10	0	1	5,00E+01	1,70	2,53	1,07	
2		0,67	10	0	1	5,00E+01	1,70			
3		0,67	10	0	1	5,00E+01	1,70			
4	2	0,67	10	0	1	5,00E+01	1,70			
5		0,67	10	4	3	3,50E+02	2,54			
6		0,67	1	9	11	1,00E+02	2,00			
7	3	0,67	1	72	99	8,55E+02	2,93			
8		0,67	10	319	319	3,19E+04	4,50			
9		0,67	10	83	109	9,60E+03	3,98			

Tabla 9.39. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O111 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy).

Cepa	Número de muestra	Número de repetición	Dosis absorbida promedio	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
O111	1	1	0	10000	138	107	1,23E+07	7,09	7,15	0,11
	2		0	10000	140	145	1,43E+07	7,15		
	3		0	10000	144	114	1,29E+07	7,11		
	4	2	0	10000	87	95	9,10E+06	6,96		
	5		0	10000	118	126	1,22E+07	7,09		
	6		0	10000	208	189	1,99E+07	7,30		
	7	3	0	10000	212	182	1,97E+07	7,29		
	8		0	10000	165	155	1,60E+07	7,20		
	9		0	10000	174	142	1,58E+07	7,20		
	1	1	0,27	1000	56	97	7,65E+05	5,88	5,98	0,31
	2		0,27	1000	64	76	7,00E+05	5,85		
	3		0,27	1000	61	39	5,00E+05	5,70		
	4	2	0,27	1000	68	62	6,50E+05	5,81		
	5		0,27	1000	29	31	3,00E+05	5,48		
	6		0,27	1000	165	158	1,62E+06	6,21		
	7	3	0,27	1000	187	186	1,87E+06	6,27		
	8		0,27	1000	196	211	2,04E+06	6,31		
	9		0,27	1000	260	197	2,29E+06	6,36		
	1	1	0,46	100	12	13	1,25E+04	4,10	4,52	0,86
	2		0,46	100	18	11	1,45E+04	4,16		
	3		0,46	100	8	3	5,50E+03	3,74		
	4	2	0,46	100	7	9	8,00E+03	3,90		
	5		0,46	100	1	3	2,00E+03	3,30		
	6		0,46	100	139	169	1,54E+05	5,19		
	7	3	0,46	100	125	140	1,33E+05	5,12		
	8		0,46	100	397	387	3,92E+05	5,59		
	9		0,46	100	418	357	3,88E+05	5,59		
	1	1	0,65	10	0	1	5,00E+01	1,70	3,44	1,43
	2		0,65	10	72	53	6,25E+03	3,80		
	3		0,65	10	14	17	1,55E+03	3,19		
4	2	0,65	10	0	1	5,00E+01	1,70			
5		0,65	10	0	1	5,00E+01	1,70			
6		0,65	10	162	194	1,78E+04	4,25			
7	3	0,65	10	412	388	4,00E+04	4,60			
8		0,65	10	1938	1676	1,81E+05	5,26			
9		0,65	10	652	446	5,49E+04	4,74			

Tabla 9.40. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O145 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy).

Cepa	Número de muestra	Número de repetición	Dosis absorbida promedio	Dilucion	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
O145	1	1	0	10000	94	61	7,75E+06	6,89	7,11	0,12
	2		0	10000	129	142	1,36E+07	7,13		
	3		0	10000	96	117	1,07E+07	7,03		
	4	2	0	10000	126	106	1,16E+07	7,06		
	5		0	10000	127	115	1,21E+07	7,08		
	6		0	10000	195	178	1,87E+07	7,27		
	7	3	0	10000	174	167	1,71E+07	7,23		
	8		0	10000	167	169	1,68E+07	7,23		
	9		0	10000	190	67	1,29E+07	7,11		
	1	1	0,27	1000	47	30	3,85E+05	5,59	5,81	0,25
	2		0,27	1000	39	47	4,30E+05	5,63		
	3		0,27	1000	60	42	5,10E+05	5,71		
	4	2	0,27	1000	48	26	3,70E+05	5,57		
	5		0,27	1000	38	41	3,95E+05	5,60		
	6		0,27	1000	178	157	1,68E+06	6,22		
	7	3	0,27	1000	120	163	1,42E+06	6,15		
	8		0,27	1000	73	57	6,50E+05	5,81		
	9		0,27	1000	81	106	9,35E+05	5,97		
	1	1	0,46	100	24	27	2,55E+04	4,41	3,96	0,84
	2		0,46	100	1	5	3,00E+03	3,48		
	3		0,46	100	0,1	0,1	1,00E+02	2,00		
	4	2	0,46	100	26	25	2,55E+04	4,41		
	5		0,46	100	4	6	5,00E+03	3,70		
	6		0,46	100	60	66	6,30E+04	4,80		
	7	3	0,46	100	28	27	2,75E+04	4,44		
	8		0,46	10	122	124	1,23E+04	4,09		
	9		0,46	10	203	177	1,90E+04	4,28		
1	1	0,65	10	0	1	5,00E+01	1,70	2,99	1,57	
2		0,65	10	0	1	5,00E+01	1,70			
3		0,65	10	0	1	5,00E+01	1,70			
4	2	0,65	10	0	1	5,00E+01	1,70			
5		0,65	10	0	1	5,00E+01	1,70			
6		0,65	10	80	69	7,45E+03	3,87			
7	3	0,65	10	353	351	3,52E+04	4,55			
8		0,65	10	1000	1000	1,00E+05	5,00			
9		0,65	10	1000	1000	1,00E+05	5,00			

Tabla 9.41. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de STEC O157 y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy).

Cepa	Número de muestra	Número de repetición	Dosis absorbida promedio	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
O157	1	1	0	10000	160	174	1,67E+07	7,22	7,15	0,10
	2		0	10000	143	190	1,67E+07	7,22		
	3		0	10000	126	144	1,35E+07	7,13		
	4	2	0	10000	123	124	1,24E+07	7,09		
	5		0	10000	89	93	9,10E+06	6,96		
	6		0	10000	150	189	1,70E+07	7,23		
	7	3	0	10000	150	189	1,70E+07	7,23		
	8		0	10000	167	172	1,70E+07	7,23		
	9		0	10000	87	134	1,11E+07	7,04		
	1	1	0,26	1000	145	67	1,06E+06	6,03	5,98	0,14
	2		0,26	1000	165	137	1,51E+06	6,18		
	3		0,26	1000	77	55	6,60E+05	5,82		
	4	2	0,26	1000	69	80	7,45E+05	5,87		
	5		0,26	1000	71	61	6,60E+05	5,82		
	6		0,26	1000	106	125	1,16E+06	6,06		
	7	3	0,26	1000	148	146	1,47E+06	6,17		
	8		0,26	1000	107	69	8,80E+05	5,94		
	9		0,26	1000	94	85	8,95E+05	5,95		
	1	1	0,47	100	19	19	1,90E+04	4,28	4,78	0,39
	2		0,47	100	28	30	2,90E+04	4,46		
	3		0,47	100	32	39	3,55E+04	4,55		
	4	2	0,47	100	296	245	2,71E+05	5,43		
	5		0,47	100	104	135	1,20E+05	5,08		
	6		0,47	100	51	69	6,00E+04	4,78		
	7	3	0,47	100	20	31	2,55E+04	4,41		
	8		0,47	100	77	98	8,75E+04	4,94		
	9		0,47	100	111	143	1,27E+05	5,10		
	1	1	0,64	10	16	20	1,80E+03	3,26	3,76	0,82
	2		0,64	10	8	13	1,05E+03	3,02		
	3		0,64	10	164	267	2,16E+04	4,33		
	4	2	0,64	10	5	1	3,00E+02	2,48		
	5		0,64	10	16	14	1,50E+03	3,18		
	6		0,64	10	65	79	7,20E+03	3,86		
	7	3	0,64	10	624	696	6,60E+04	4,82		
	8		0,64	10	136	137	1,37E+04	4,14		
	9		0,64	10	688	432	5,60E+04	4,75		

Tabla 9.42. Recuentos en agar Tripticasa Soja (TSA) de las muestras de carne picada bovina inoculados con una alta concentración de un coctel de cepas STEC y tratadas con 3 dosis de irradiación (0,2; 0,4; y 0,6 kGy).

Cepa	Número de muestra	Número de repetición	Dosis absorbida promedio	Dilución	Recuento 1	Recuento 2	UFC/g	log UFC/g	Promedio	Desvío estándar
Coctel	1	1	0	10000	73	117	9,50E+06	6,98	7,05	0,06
	2		0	10000	153	93	1,23E+07	7,09		
	3		0	10000	94	169	1,32E+07	7,12		
	4	2	0	10000	98	101	9,95E+06	7,00		
	5		0	10000	82	164	1,23E+07	7,09		
	6		0	10000	88	90	8,90E+06	6,95		
	7	3	0	10000	130	135	1,33E+07	7,12		
	8		0	10000	125	110	1,18E+07	7,07		
	9		0	10000	100	120	1,10E+07	7,04		
	1	1	0,23	1000	220	69	1,45E+06	6,16	5,84	0,46
	2		0,23	1000	164	237	2,01E+06	6,30		
	3		0,23	1000	107	75	9,10E+05	5,96		
	4	2	0,23	1000	16	13	1,45E+05	5,16		
	5		0,23	1000	44	42	4,30E+05	5,63		
	6		0,23	1000	120	145	1,33E+06	6,12		
	7	3	0,23	1000	23	26	2,45E+05	5,39		
	8		0,23	1000	30	22	2,60E+05	5,41		
	9		0,23	1000	270	287	2,79E+06	6,44		
	1	1	0,46	100	451	381	4,16E+05	5,62	4,78	0,56
	2		0,46	100	34	29	3,15E+04	4,50		
	3		0,46	100	92	147	1,20E+05	5,08		
	4	2	0,46	100	11	24	1,75E+04	4,24		
	5		0,46	100	32	27	2,95E+04	4,47		
	6		0,46	100	150	143	1,47E+05	5,17		
	7	3	0,46	100	15	13	1,40E+04	4,15		
	8		0,46	100	20	19	1,95E+04	4,29		
	9		0,46	100	310	280	2,95E+05	5,47		
1	1	0,62	10	70	110	9,00E+03	3,95	3,85	0,81	
2		0,62	10	87	80	8,35E+03	3,92			
3		0,62	10	5	5	5,00E+02	2,70			
4	2	0,62	10	54	45	4,95E+03	3,69			
5		0,62	100	84	100	9,20E+04	4,96			
6		0,62	10	12	4	8,00E+02	2,90			
7	3	0,62	10	18	14	1,60E+03	3,20			
8		0,62	100	50	55	5,25E+04	4,72			
9		0,62	100	43	40	4,15E+04	4,62			