

Estudio a campo de sobrevida de *Escherichia coli* sobre la superficie de fruta de pepita

Gastaldo, M. ⁽¹⁾, Gubelin, K ⁽²⁾; Colodner, A. ⁽³⁾; Vaca Ruiz, M.L. ⁽²⁾

mgastaldo@inti.gob.ar

⁽¹⁾ Dto. Alimentos y Bebidas Patagonia-DT Regional Patagonia Norte-SORPatagonia-GOAR-INTI

⁽²⁾ Dto. Servicios Analíticos Industriales Patagonia-DT Regional Patagonia Norte-SORPatagonia-GOAR-INTI

⁽³⁾ Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) - Estación Experimental Alto Valle. Casilla de Correo N° 782 (8332) General Roca Provincia de Río Negro – Argentina.

Palabras Clave: sobrevida; *Escherichia coli*; pera; manzana.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha existido un gran desarrollo en el campo de la tecnología de los alimentos, sin embargo, esto no ha podido impedir que se sigan produciendo un gran número de infecciones e intoxicaciones de origen alimentario ^[1]. Según la Organización Mundial de la Salud ^[2], las tecnologías actuales o prácticas aplicadas durante el proceso poscosecha, permiten disminuir el riesgo, pero no eliminan eficazmente los microorganismos que contaminan frutas y hortalizas. Por lo tanto, los esfuerzos se deben dirigir fundamentalmente a la prevención de la contaminación tanto en precosecha como en poscosecha.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo fue estudiar la sobrevida de *E. coli* sobre la superficie de frutos de pepita en condiciones precosecha para evaluar su comportamiento y poder analizar prácticas adecuadas de manejo del agua de uso agrícola tendientes a minimizar el riesgo de contaminación.

DESARROLLO

El estudio se realizó en peras var. Packhams Triumph y manzanas var. Red Delicious conducidas en espaldera en la región de Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Se seleccionaron 3 plantas de cada especie, una de ellas se mantuvo como control, las otras 2 se contaminaron artificialmente con *E. coli*. Esto se realizó por duplicado y en dos temporadas de cosecha (2015-2016).

Para la contaminación, se pulverizaron las frutas con la suspensión de trabajo (inóculo: 10^7 UFC/ml de *E. coli* ATCC 25922).

Los frutos fueron recolectados al azar. Se tomaron 2 muestras de 5 frutos por cada planta. Los tiempos de toma de muestra fueron: 30 min. posteriores a realizar la pulverización de las plantas (tiempo 0) y luego de 1, 3, 7, 14 y 28 días o hasta no obtener desarrollo.

En el laboratorio, se adicionó 200 mL de agua peptonada buffereada y se sembró 1 ml en agar TBX según ISO 16649-2. Los resultados del recuento en placa se expresaron como UFC/ml según ISO 7218.

En forma paralela, se realizaron a partir del día 1 siembras en medio líquido según ISO 16649-3:2015. Los resultados obtenidos de enumeración se expresaron en NMP/100 ml según ISO 7218.

Los ensayos se repitieron en una segunda instancia. Las tomas de muestra se efectuaron por duplicado, tanto en las plantas control, como las plantas contaminadas artificialmente.

RESULTADOS

Resultados de inoculación Peras Packhams:

Primera infección-2015	
Día 0	P1 (planta 1): M1 (muestra 1) = 180 UFC/ml; M2 (muestra 2) = 6.800 UFC/ml. P2 (planta 2): M1= 2.800 UFC/ml; M2= 77.000 UFC/ml.
Día 1	P1M1 y P1M2= no se obtuvo desarrollo para recuento (UFC/ml); P1M1= 36 NMP/100 ml; P1M2= 36 NMP/100 ml. P2M1= 27 UFC/ml y 750 NMP/100 ml; P2M2= 2.000 UFC/ml y mayor a 11.000 NMP/100 ml.
Día 3	P1M1 y M2 y P2M1 y M2 = no se obtuvo desarrollo para recuento; P1M1=230 NMP/100 ml; P1M2= no se obtuvo desarrollo para NMP/100 ml. P2M1= no se obtuvo desarrollo para NMP/100 ml; P2M2= 36 NMP/100 ml
Día 7	No se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP
Primera infección-2016	
Día 0	P1 M1 = 13.000 UFC/ml; P1M2 = 120 UFC/ml. P2M1= 620 UFC/ml; P2M2= 1.600 UFC/ml.
Día 1	P1M1: 2 UFC/ml y 4.300 NMP/100 ml; P1M2= 3 UFC/ml y 2.100 NMP/100 ml. P2M1= 2 UFC/ml y 430 NMP/100 ml;

	P2M2 = 2 UFC/ml y 150 NMP/100 ml.
Día 3	P1M1: 6 UFC/ml y 930 NMP/100 ml; P1M2= sin desarrollo para recuento y NMP. P2M1= sin desarrollo para recuento y NMP; P2M2 = 2 UFC/ml y 4300 NMP/100 ml.
Día 7	No se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP
Segunda infección-2015	
Día 0	P1M1= 1.100 UFC/ml; P1M2 = 5.000 UFC/ml. P2 M1= 650 UFC/ml; P2M2= 3.900 UFC/ml.
Día 1	P1M1= 530 UFC/ml y mayor a 11.000 NMP/100 ml; P1M2= 1.500 UFC/ml y mayor a 11.000 NMP/100 ml. P2M1= 130 UFC/ml y mayor a 11.000 NMP/100 ml; P2M2= 1.900 UFC/ml y mayor a 11.000 NMP/100 ml.
Día 3	P1M2 = no se obtuvo desarrollo para recuento y P2M1 y P2M2 = no se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP; P1M1= no se obtuvo desarrollo para recuento y 36 NMP/100 ml
Día 7	No se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP
Segunda infección-2016	
Día 0	P1M1= 17.000 UFC/ml; P1M2 = 50.000 UFC/ml. P2 M1= 16.000 UFC/ml; M2= 24.000 UFC/ml.
Día 1	P1M1= 14 UFC/ml y 930 NMP/100 ml; P1M2 = 1 UFC/ml y 92 NMP/100 ml. P2M1= 24 UFC/ml y 2.400 NMP/100 ml; P2M2= 3 UFC/ml y 430 NMP/100 ml.
Día 3	P1M1 = no se obtuvo desarrollo para recuento y 2.400 NMP/100 ml; P1M2 = 22 UFC/ml y 4.600 NMP/100 ml P2M1= no se obtuvo desarrollo para recuento y 36 NMP/100 ml; P2M2 = no se obtuvo desarrollo para recuento y 36 NMP/100 ml
Día 7	P1M1 = 67 UFC/ml y 4.600 NMP/100 ml; P1M2 = 57 UFC/ml y 4.600 NMP/100 ml. P2M1= 6 UFC/ml y 230 NMP/100 ml; P2M2 = no se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP.
Día 14	No se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP

Resultados de inoculación manzanas var. Red Delicious:

Primera infección-2015	
Día 0	P1 M1 = 4.100 UFC/ml; P1M2 = 320 UFC/ml. P2M1= 17.000 UFC/ml; P2M2= 680 UFC/ml.
Día 1	P1M1: no se obtuvo desarrollo para recuento y 230 NMP/100 ml; P1M2= no se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP. P2M1= no se obtuvo desarrollo para recuento y 230 NMP/100 ml; P2M2 = no se obtuvo desarrollo para recuento y 230 NMP/100 ml
Día 3	No se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP
Primera infección-2016	
Día 0	P1 M1 = 13.000 UFC/ml; P1M2 = 120 UFC/ml. P2M1= 620 UFC/ml; P2M2= 1.600 UFC/ml.
Día 1	P1M1= 3 UFC/ml y 2.400 NMP/100 ml; P1M2 = no se obtuvo desarrollo para recuento y 150 NMP/100 ml. P2M1= 1 UFC/ml y 930 NMP/100 ml; P2M2= 2 UFC/ml y 230 NMP/100 ml.
Día 3	No se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP
Segunda infección-2015	
Día 0	P1M1= 110 UFC/ml; P1M2 = 45.000 UFC/ml. P2 M1= 53.000 UFC/ml; P2M2= 170.000 UFC/ml.
Día 1	P1M1= 270 UFC/ml y mayor a 11.000 NMP/100 ml; P1M2 = 2 UFC/ml y 430 NMP/100 ml. P2M1= 1.200 UFC/ml y mayor a 11.000 NMP/100 ml; P2M2= 13 UFC/ml y mayor a 11.000 NMP/100 ml
Día 3	P1M1= 4 UFC/ml y 230 NMP/100 ml; P1M2 = no se obtuvo desarrollo de recuento ni de NMP. P2M1= 14 UFC/ml y 92 NMP/100 ml; P2M2= no se obtuvo desarrollo para recuento y 140 NMP/100 ml.
Día 7	No se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP
Segunda infección-2016	
Día 0	P1M1= 80.000 UFC/ml; P1M2 = 81.000 UFC/ml. P2 M1= 150.000 UFC/ml; M2= 87.000 UFC/ml.
Día 1	P1M1= 3 UFC/ml y 2.400 NMP/100 ml; P1M2 = no se obtuvo desarrollo para recuento y 230 NMP/100 ml. P2M1= 2 UFC/ml y 430 NMP/100 ml; P2M2= 5 UFC/ml y 930 NMP/100 ml.
Día 3	No se obtuvo desarrollo para recuento ni para NMP

En cuanto a las plantas control, no se obtuvo desarrollo en las muestras analizadas por ambas metodologías.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos se concluye que, a pesar de posibles factores climáticos o condiciones intrínsecas de cada alimento, *E. coli* no logró desarrollar en la superficie de manzanas var. Red Delicious y peras var. Packhams Triumph. Además, no se obtuvo desarrollo de la cepa inoculada por las metodologías empleadas, 7 días poscontaminación en manzanas y 14 días poscontaminación en peras.

Por lo expuesto anteriormente, 7 días y 14 días, entre la utilización del agua de uso agrícola y la cosecha, resultan un plazo que permitiría minimizar el riesgo de contaminación microbiológica de la fruta asociado al riego, para el caso de manzanas y peras respectivamente.

También, al analizar comparativamente la supervivencia de los microorganismos en manzanas y peras, se demuestra que esta depende de las características de la matriz.

A su vez, los niveles de inóculo utilizados en el presente estudio difícilmente puedan ser alcanzados por las condiciones del agua de uso agrícola de los establecimientos productivos regionales. Por esto, los períodos de seguridad para garantizar la disminución del riesgo asociado a la calidad de agua de uso agrícola podrían resultar sobreestimados.

Por otra parte, en el presente trabajo no se analizó la integridad de la muestra analizada. Los daños en la piel de la fruta podrían interferir en la sobrevivencia del microorganismo.

Finalmente, resulta importante tener en cuenta que, la evaluación del comportamiento de *E. coli* no patogénica no se puede extrapolar con el de otros microorganismos patógenos. El análisis de otros microorganismos brindará información para tomar medidas efectivas tendientes a garantizar la inocuidad del producto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Ewing, W.H, et al." Identification of Enterobacteriaceae".4th. Edition, Elsevier,1985 p: 85-89.
- [2] OMS, "Enterohaemorrhagic Escherichia coli (EHEC)", 2008.