



# *Clostridium perfringens* sulfito reductores en hamburguesas que se comercializan en mercados de la ciudad de Trujillo, Perú.

## Sulphite-reducing *Clostridium perfringens* in hamburgers sold at markets in the city of Trujillo, Peru

Pedro A. Alvarado Salinas, María N. Vásquez Valles, Wilton H. Saldaña Sevilla y Aracely Vargas Huamán

Departamento de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú

### RESUMEN

Se investigó la presencia y número de *Clostridium perfringens* sulfito reductores en hamburguesas que se comercializa en los mercados zonal de Palermo, Central y de Monserrate de la ciudad de Trujillo (Perú), entre mayo a septiembre del 2012.

Se analizaron 15 muestras de hamburguesas preparadas artesanalmente y 15 muestras procesadas industrialmente, procedentes de cada uno de los mercados considerados para el muestreo. A partir de cada muestra colectada se hicieron diluciones seriadas y se sembraron en sulfito polimixina sulfadiacina (SPS). Las colonias características se resembraron en caldo tioglicolato y se hizo la identificación considerando: la reacción Gram, movilidad, reducción de nitratos a nitritos, licuefacción de la gelatina y degradación de la lactosa.

Las muestras de hamburguesas positivas a *C. perfringens* sulfito reductores fue del 100% para muestras preparadas artesanalmente y de 0% para las muestras procesadas industrialmente. El recuento en las muestras de hamburguesas preparadas artesanalmente varió entre  $3 \times 10^1$  y  $90 \times 10^1$  ufc/gramo de muestra, consideradas por debajo de la dosis infectiva.

**Palabras clave:** *Clostridium perfringens* sulfito reductores, Gram, Mercados de Trujillo, Perú.

### ABSTRACT

We investigated the presence and number of sulphite-reducing *Clostridium perfringens* in hamburgers sold in Palermo zonal markets, Central and Monserrate Trujillo city (Peru), from May to September, 2012. We analyzed 15 samples prepared handmade burgers and industrially processed 15 samples, from each of the markets considered for sampling. From each collected sample dilutions were made and seeded into sulfite polymyxin sulfadiazine (SPS). Characteristic colonies were replated in thioglycolate broth and identification was considering positivity: Gram reaction, motility, nitrate reduction to nitrite, gelatin liquefaction and degradation of lactose. Hamburger samples positive for *C. perfringens* sulphite-reducing was 100% for samples prepared by hand, and 0% for samples processed industrially. Counting in samples prepared hamburgers artisan varied between  $3 \times 10^1$  and  $90 \times 10^1$  cfu / gram of sample, taken under infective dose.

**Keywords:** *Clostridium perfringens* sulphite-reducing, Gram, Trujillo (Peru) Markets



---

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA), son causadas por el consumo de alimentos contaminados con microorganismos patógenos o sus toxinas. La contaminación de los alimentos pueden ser endógena, cuando el agente etiológico esta en los animales mismos, o bien pueden contaminarse con organismos provenientes del medio ambiente donde se almacena, maneja o procesa el alimento<sup>1,2,3</sup>. Los microorganismos al contaminar los alimentos deben encontrar en ellos las condiciones adecuadas para sobrevivir y multiplicarse, hasta alcanzar los niveles necesarios para ser infectantes o producir la suficiente toxina para causar la enfermedad<sup>4</sup>.

Uno de los microorganismos patógenos para el hombre es *Clostridium perfringens*, considerado como causante de infección grave de las herida denominadas gangrenas gaseosa desde 1892; poco después, en 1895 y en 1899, se le relacionó con brotes de gastroenteritis en Londres y finalmente, debido a la aparición de brotes asociados con las comidas de las escuelas y con platos de pollo precocinado en los EEUU (1945) ratificaron de modo válido a *C. perfringens* como una causa de intoxicación alimentaria<sup>1,5,6,7</sup>.

*C. perfringens*, es un organismo anaerobio Gram-positivo de forma bacilar que forma esporas ovales subterminales. Se diferencia de los demás clostridios en que los bacilos, relativamente grandes, son cápsulados e inmóviles; crece a temperaturas de 12 a 50°C, aunque es muy lento a temperaturas inferiores a 20°C pero extraordinariamente rápido al rango de temperatura entre 43 y 47°C, con un tiempo de generación de sólo 7,1 minutos<sup>1,4</sup>. Las colonias sospechosas pueden ser confirmadas por la ausencia de movilidad, por su capacidad de reducir el nitrato a nitrito, por la fermentación de la lactosa y por la licuación de la gelatina<sup>1,4</sup>.

La intoxicación alimentaria por *C. perfringens* es generalmente una enfermedad autolimitante, no febril, que se manifiesta por náuseas, dolor abdominal, diarrea y vómito; su comienzo ocurre a las 8 a 24 horas después de la ingestión del alimento que contenía al microbio en su forma vegetativa: la dosis infectiva ha sido calculada en 1000000-100000000 ufc por gramo de alimento<sup>1,2,8</sup>. Las células vegetativas ingeridas resisten la acidez del estómago, pasan al intestino delgado donde crecen, esporulan y liberan una enterotoxina de naturaleza proteica asociada a la envoltura de la spora, que en ocasiones son resistentes al calor de hasta 100°C durante una hora<sup>1,4,9</sup>. La mayoría de los casos están relacionados con productos cárnicos tales como estofados, jugos de carne, articulaciones de la carne asada, empanadas con carne, porciones grandes de carne rellena, etc.<sup>1,8</sup>. Otros alimentos que pueden estar contaminados son las canales de aves de corral, el pescado, las hortalizas, los productos lácteos, los alimentos deshidratados, etc. que han sido expuestos al sol, el polvo y la materia fecal en la que se pueden encontrar esporas<sup>4</sup>.

En general, los alimentos que con más frecuencia están relacionados con la enfermedad son carnes que después de ser cocinadas se dejan enfriar lentamente y se tarda algún tiempo en consumirlas, por lo que *C. perfringens* pueden encontrar condiciones adecuadas y multiplicarse fácilmente<sup>5,10</sup>.

Considerando que es frecuente consumir hamburguesas bajo diferentes preparaciones en diferentes partes del mundo entre ellas la ciudad de Trujillo, y que el microorganismo en cuestión encuentra condiciones adecuadas para su crecimiento y multiplicación en cualquier medio que contenga carne y que solamente existe un antecedente: el de Noriega<sup>11</sup> quien informó la presencia de *C. perfringens* en embutidos crudos que se comercializan en diferentes mercados de la ciudad de Trujillo, se propuso la presente investigación que estuvo orientada a determinar la presencia y número de *C. perfringens* sulfito reductor en hamburguesas que se comercializan en diferentes mercados de la ciudad de Trujillo, entre mayo y setiembre del 2012.



## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material de estudio

Las muestras de hamburguesas motivo de estudio, fueron tomadas en los mercados Zonal de Palermo, Central y de Monserrate de la de la Ciudad de Trujillo. En cada uno de los mercados se colectaron 30 unidades de muestras de hamburguesas y, la toma de dichas muestras se hizo durante los meses de mayo a septiembre del 2012.

### Muestra y toma de muestra:

Cada unidad de muestra estuvo conformada por aproximadamente 100 gramos de hamburguesas obtenidas de los mercados antes indicados y fueron colectadas una vez por semana en cada uno de ellos. Las muestras fueron colectadas en bolsas plástico de primer uso, y transportadas al laboratorio para su análisis.

### Siembra, aislamiento e identificación de *C. perfringens* sulfito reductores<sup>12</sup>.

Se pesaron 10 gramos de cada muestra colectada, las que, por separado, se añadieron a matraces conteniendo 90 mL de solución salina fisiológica peptonada (SSFP) estéril, obteniéndose de esta forma una dilución al 1/10. A partir de esta dilución, se hicieron diluciones al 1/100 y al 1/1000.

- A partir de cada una de las diluciones, con una pipeta estéril, se tomó 1 mL y se depositó en tubos estériles y, a continuación, se agregó el medio de cultivo sulfito polimixina sulfadiazina (SPS). Se dejó solidificar, y luego se agregó 1 mL del mismo medio de cultivo a fin de asegurar la anaerobiosis.
- Realizadas las siembras, se llevaron a incubar a 37 °C por 24 horas.
- Transcurrido el tiempo de incubación se seleccionaron los tubos que contenían colonias negras, y se cuantificaron.
- Realizada la cuantificación, el medio de cultivo se llevó a una placa estéril y, se procedió a seleccionar cinco colonias negras, para luego sembrarlas en caldo tioglicolato y se incubó a 45 °C por 24 horas.
- Transcurrido el tiempo de incubación, se procedió a la identificación, para lo cual se realizó la coloración Gram y se sembró en el medio nitrato movilidad y en el medio el medio de cultivo gelatina lactosa, a fin de verificar la reducción de nitratos a nitritos, movilidad, licuefacción de la gelatina y degradación de la lactosa, respectivamente.

## RESULTADOS

Se encontró a *C. perfringens* sulfito reductor en el 100% de hamburguesas preparadas artesanalmente de los tres Mercados investigados; en cambio no se encontró en las hamburguesas procesadas industrialmente; asimismo, el número de *C. perfringens* sulfito reductor encontrado en las muestras de hamburguesas preparadas artesanalmente varió entre  $3 \times 10^1$  y  $90 \times 10^1$  ufc/gramo de muestra (Tabla 1).

Tabla 1. Frecuencia de muestras de hamburguesas positivas a *Clostridium perfringens* y rango de u.f.c./gramo de muestra, según mercado trabajado.

Mercado y Tipo de muestra	Nº de muestras analizadas	Nº de muestras positivas y porcentaje	Rango de ufc/gramo de muestra
Zonal Palermo			
-Artesanal	15	15 (100 %)	17x10 <sup>1</sup> y 90x10 <sup>1</sup>
-Industrial	15	0 (0.0 %)	-----
Central			
-Artesanal	15	15 (100 %)	03x10 <sup>1</sup> y 20x10 <sup>1</sup>
-Industrial	15	0 (0.0 %)	-----
Monserrate			
-Artesanal	15	15 (100 %)	40x10 <sup>1</sup> y 97x10 <sup>1</sup>
-Industrial	15	0 (0.0 %)	-----

## DISCUSIÓN

La determinación de *C. perfringens* sulfito reductor en hamburguesas se realizó considerando que son productos que se expenden en gran cantidad de servicios de alimentación pública y que son muchas las personas que diariamente consumen este producto. *C. perfringens* es una bacteria asociada a un cuadro de intoxicación alimentaria relacionado, principalmente, con la ingesta de derivados de productos cárnicos<sup>1,4</sup>. Se conoce que esta bacteria puede provocar intoxicación alimentaria autolimitante, no febril, que se caracteriza por náuseas, dolor abdominal, diarrea y menos frecuentemente vómito<sup>7,8</sup>.

En el presente estudio se demostró que *C. perfringens* se encuentra en todas las muestras de hamburguesa de carne de res que se prepara en forma artesanal y que se expenden en los mercados Zonal Palermo, Central y de Monserrate; sin embargo, no se detectó al microorganismo en las muestra de hamburguesa procesadas industrialmente y que se expenden en los mismos mercados. Esto podría deberse a que, como se sabe, industrialmente la producción se realiza siguiendo normas higiénicas estrictas y controladas, en tanto que la producción artesanal, como su nombre lo dice, se hace en cantidades bajas, por personas de poco dinero y muchas veces apelando a productos de baja calidad y en condiciones higiénicas desfavorables, hechos que conducen a su exposición a diferentes agentes infecciosos, en mayor grado a bacterias esporógenas, como es el caso de *C. perfringens*.

Al mismo tiempo, en cuanto al número de *Clostridium perfringens* en las muestras de hamburguesas preparadas artesanalmente, las cantidades halladas (03x10<sup>1</sup> y 97x10<sup>1</sup> ufc por gramo de muestra) se encuentran por debajo de la dosis infectante<sup>6,7,8,11</sup>, aspecto que enfatiza que la contaminación de las hamburguesas ocurre durante el proceso de fabricación y que ello explique que no se presenten muchos casos notificados de este tipo de intoxicación; sin embargo, debe considerarse que el microbio está allí y que en cualquier momento puede presentar intoxicaciones manifiestas. Es necesario indicar que no se han encontrado trabajos similares al presente estudio, hecho que no permite efectuar la discusión comparativa.

Guarda relación con los hallazgos hechos en la presente investigación, el hecho que la mayoría de alimentos en los que se ha detectado a *C. perfringens*, son los productos cárnicos tales como estofados, jugos de carne, carne molida, articulaciones de carne asada, empanadas de carne, porciones de carne rellena, etc., adicionándose las hamburguesas<sup>7,8,13,14</sup>. Asimismo, que esta bacteria está ampliamente distribuido en la naturaleza y se halla en la tierra, en las aguas, en los alimentos, en el polvo, en las especias y en el tracto intestinal de las personas y de los animales; por lo tanto, dicho microbio llega a las carnes directamente desde los animales que se sacrifican en el matadero, o por contaminación subsiguiente de la carne de los animales sacrificados a partir de los recipientes, de los manipuladores, o por el polvo<sup>7</sup>. Además, por tratarse de un microorganismo esporógeno, es capaz de soportar condiciones adversas como la desecación y calentamiento<sup>7,8</sup>.



En carne de res se ha reportado la presencia de bacterias patógenas como *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* y *Clostridium perfringens*, que pueden estar presentes en la superficie<sup>15</sup>. Además, se conoce que la carne constituye un medio ideal para el crecimiento de microorganismos debido a sus características de pH, humedad y nutrientes<sup>16</sup>. Esto explica el alto porcentaje hallado aquí y en otros países, como por ejemplo en Costa Rica donde se ha aislado *C. perfringens* en las plantas procesadoras de carne, tanto en las zonas rurales como urbanas, en el 88% de las muestra de suelos aledaños a los establecimientos, en el 93% de los intestinos de los animales sacrificados, en el 61% de las carnes procesadas y molidas listas para su distribución, en el 75% de los expendios de alimentos de las muestras de carne molida y en el 36% de carne en trozo<sup>17</sup>.

Finalmente, los resultados encontrados en el presente estudio, señalan que las hamburguesas sobre todo las de preparación artesanal, podrían ser de importancia en casos de intoxicación por *C. perfringens*, sobre todo si las condiciones de conservación y cocción antes de su consumo son inadecuadas.

### CONCLUSIONES

- *Clostridium perfringens* se encuentra presente en hamburguesas preparadas artesanalmente en algunos mercados de la ciudad de Trujillo.
- El número de *Clostridium perfringens* en hamburguesas preparadas artesanalmente están dentro de los permitidos para este producto.
- *Clostridium perfringens* está ausente en hamburguesas preparadas industrialmente.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adams M, Moss M. Microbiología de los alimentos. Zaragoza, España: Edit. Acribia, S.A. 1997.
2. Jawetz E, Melnick J, Adelberg E. Microbiología Médica. 14ava ed. México: Edit. El manual moderno, S.A. 1992
3. Parrilla C, Vásquez C, Saldade C, Nava F. Brotes de toxiinfecciones alimentarias de origen microbiano y parasitario. Salud Pública de México 1993; 35(5): 23-29.
4. ICMSF. Microbiología de los alimentos. Técnicas de análisis microbiológicos. Vol. I. 2da. ed. España: Edit. Acribia, S.A. 2000.
5. Frazier W, Westhoff D. Microbiología de los alimentos. 3º ed. España: Edit. Acribia, S.A. 2003.
6. Mossel D, Moreno B. Microbiología de los alimentos. 2da. ed. España: Edit. Acribia, S.A. 2006.
7. Jay JM. Microbiología Moderna de los alimentos. 5ta ed. España: Edit. Acribia, S.A. 2009.
8. Johns N. Higiene de los alimentos. España: Edit. Acribia, S.A. 2000.
9. Berkow MD, Fletcher MB. El manual Merck de diagnóstico y terapéutica. 8ava ed. España: Edit. Doyma, S.A. 1993.
10. Larrañaga C. Control e higiene de los alimentos. 3era ed. España: Edit. Mac Graw Hill, Interamericana. 1998.
11. Noriega MD. *Clostridium perfringens* en embutidos comercializados en mercados de Trujillo. Tesis Br. Fac. Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo. Trujillo. Perú. 2008
12. Gil T. 2001. Investigación y recuento de *Clostridium perfringens*. DOI: <http://www.uib.es/depart/dba/microbiologia/MAAM/pind.html>.
13. Gutiérrez A, Gamboa M, Rodríguez E, Laura M. Presencia de *Clostridium perfringens* en preparaciones a base de carne en servicios de alimentación pública del Cantón Central de San José, Costa Rica. Home Ediciones 1999; 49(3): 45-54.
14. Wong R, Silva A, Badilla X. Intoxicación alimentaria por *Clostridium perfringens* en el Centro Penitenciario de Atención Institucional de San José. Estudio de cohorte retrospectivo. Acta Méd Costarric 2004; 46(2) 13-18.
15. Varnam H, Sutherland P. Carne y productos cárnicos. España: Edit. Acribia S.A. 1995
16. Bello G. Ciencia Bromatológica. Principios generales de alimentos. España: Edit. Díaz de Santos. 2000.
17. Rodríguez E, Gamboa M, Vargas P. *Clostridium perfringens* en carnes crudas y cocidas y su relación con el ambiente en Costa Rica. Ach Lat Nut 2002; 52(2): 21-28.