

Brote de Gastroenteritis provocado por el consumo de Empanadas de Carne

Silvia Michanie (1), Alicia Vega (2), Gilberto Padilla (3) y Amalia Rea Nogales (4)
Trabajo realizado en el Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS.

1 - Dirección actual: Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis, OPS /OMS - Casilla de Correo 44 (1640) Martínez - Buenos Aires - Argentina

2- Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA

3- Centro de Estudios y Control de Contaminantes (CESCCO). - Tegucigalpa - Honduras

4- Instituto Nacional de Laboratorios de Salud - La Paz - Bolivia

La Alimentación Latinoamericana N° 194:49-54, 1993

Palabras claves: Alimentos, *Clostridium perfringens*, brote gastroenteritis

Resumen

Un brote de origen alimentario por *Clostridium perfringens* tipo A se presentó en ocasión de un "lunch" en que se sirvieron empanadas de carne fritas, canapés y masas dulces. De las 41 personas encuestadas, 23 (56%) desarrollaron un síndrome típico de gastroenteritis. Las empanadas de carne fritas mostraron la mayor diferencia entre las dos tasas de ataque (46%); alta para el grupo de comensales que las consumió y enfermó (63%) y baja para el grupo que también enfermó pero no las consumió (17%). La prueba de Chi² (p<0.05) mostró una franca asociación con el consumo de empanadas. El recuento de *C. perfringens* en el picadillo de carne, de una empanada del mismo lote, pero sin freír, fue 2.6 x 10E1 UFC/g. El factor determinante del brote fue el enfriamiento inadecuado del picadillo de carne (punto crítico de control) que favoreció la germinación de las esporas de *C. perfringens* y la propagación posterior de las células vegetativas. Otros factores adicionales fueron: a) el uso de una olla en lugar de una sartén para la preparación de picadillo de carne situación que mantuvo condiciones anaeróbicas durante el escaso período de enfriamiento (1 hora), b) la colocación en la heladera del picadillo de carne presuntamente tibio, c) la fritura de las empanadas (2 a 3 min) que resultó insuficiente para reducir el número de células vegetativas contenidas en el picadillo, d) la colocación en paquetes de las empanadas, inmediatamente después de haber sido fritas, que volvió a generar un enfriamiento inadecuado que se mantuvo durante 4 horas, hasta el consumo de las empanadas. Las recomendaciones son: a) cocer el picadillo de carne en recipientes poco profundos, b) enfriar el picadillo rápidamente a temperatura del ambiente, c) refrigerarlo a temperaturas menores de 4°C sin tapas y en capas no superiores a 10 cm, d) consumir los alimentos inmediatamente después de cocidos o conservarlos a temperaturas mayores de 65°C o recalentar a temperaturas internas mínimas de 75°C antes del consumo.

Summary

Clostridium perfringens type A gastroenteritis is one of the three main foodborne diseases reported in the United States and the United Kingdom. In Argentina no information is available on the occurrence of these outbreaks, which are scarcely notified. Most foodborne disease outbreaks are due to the exposure to foods containing beef or poultry with a high numbers (10E5/g or higher) of vegetative cells. A foodborne outbreak due to the consumption of fried small minced meat pies ("empanadas") during a lunch is described in this paper. The aims of this study were to elucidate the disease's syndrome, the food involved, the etiologic agent and the factors that contributed to produce the outbreak on September 28, 1990. A "case" of gastroenteritis was

defined as a person who attended the lunch and had abdominal cramps and/or diarrhea. Forty one out of the 60 persons were surveyed. Twenty three out of the 41 attendees (56%) developed a typical gastroenteritis syndrome (Fig.1). The mean latent period was 10 hours. The symptoms which had a mean duration period of 3 hours were: abdominal cramps 100%, diarrhea 87%, nausea 35% and vomiting 9%. Fried small minced meat pies showed the greatest difference between both attack rates (46%). The Chi² test ($p < 0.05$) revealed a clear association with small pies consumption (Table I). Flow processes, hazards and critical control points during the preparation of fried small minced meat pies are presented in Figure 2. The sample under study was a small pie from the same lot consumed at the lunch, but unfried, kept in refrigeration, obtained and analyzed 3 days after preparation. Results of the microbiological examination of minced cooked meat were: 1) Gram positive bacilli at a ratio of 4-6 per field; 2) *C. perfringens* vegetative cells counts of 2.6×10^6 CFU/g, and 3) *C. perfringens* spores counts of 3.0×10^2 CFU/g. The outbreak was produced by improper cooling of minced meat, which allowed the growth of *C. perfringens* spores that probably survived cooking, and the later multiplication of the vegetative cells generated by the process. The slow decrease of meat temperature was the critical control point of the process (Fig. 2). Another critical control point was minced meat - presumably warm- kept in plastic containers with covers in the refrigerator. The frying process did not allow the stuffing to achieve a temperature of at least 75 °C which would have reduced the number of vegetative cells contained in the minced meat of the unfried small pies (2.6×10^6 CFU/g).

La gastroenteritis por *Clostridium perfringens* tipo A es una de las tres principales causas de enfermedad transmitida por los alimentos en los Estados Unidos de América y en el Reino Unido; país, este último, donde la notificación es obligatoria (10,11). En la Argentina no se dispone de datos y raramente se notifica. La mayoría de los brotes resultan de la exposición a alimentos preparados con carne bovina o pollo que contienen un número elevado ($10^5/g$ o mayor) (E=exponente) de células vegetativas viables del agente.

El microorganismo se aloja en las heces del hombre y los animales, el suelo y algunos alimentos crudos. Generalmente se encuentra en la carne cruda, en números reducidos, y llega a ésta por vía endógena o exógena, durante el proceso de faena (7). Es un bastón anaerobio, esporulado y Gram positivo con una velocidad de crecimiento que varía considerablemente a través de un amplio rango de temperaturas. El crecimiento máximo ocurre a temperaturas entre 30-47 °C. Sin embargo, el crecimiento más rápido usualmente se ubica en el límite superior de este rango (5). Algunas esporas sobreviven a las temperaturas de cocción normal y son activadas por el calor hasta germinar. Por lo general, el agente se multiplica durante el proceso de enfriamiento, si éste es inadecuado.

La toxina (polipéptido PIVI 34000) es termosensible (D60 °C/4 min) y se libera en el intestino delgado del hombre durante la esporulación de las células vegetativas. Raramente el microorganismo esporula y libera toxina en el alimento; cuando esto sucede los síntomas aparecen en promedio, 1 a 2 horas después de haber ingerido el alimento.

La mayoría de los efectos que induce la enterotoxina se deben al daño que ésta produce a nivel de la membrana citoplasmática con la consecuente pérdida de agua y electrolitos (Na^+ , Cl^-), mientras se inhibe la absorción de glucosa y el metabolismo oxidativo. A nivel de los enterocitos, la enterotoxina se fija a una proteína de las células epiteliales del ribete en cepillo, siendo esta unión necesaria para que se desencadene la acción biológica. Las alteraciones histológicas provocadas por la acción de la enterotoxina son moderadas; se produce la erosión de las crestas de las células intestinales, pero nunca una degradación importante de las células. No se conoce aún el proceso molecular de la acción de la enterotoxina sobre los enterocitos (8).

En este trabajo se describe un brote de origen alimentario provocado por el consumo de un alimento común, empanadas de carne, ofrecidas en ocasión de un "lunch". El objetivo del estudio fue establecer el síndrome de la enfermedad, el alimento involucrado, el agente causal y los factores determinantes del brote.

Materiales y Métodos

El brote

El 28 de septiembre de 1990 asistieron 60 personas a un "lunch" en el que se sirvió empanadas de carne fritas, canapés y masas dulces. Las bebidas ofrecidas fueron soda, gaseosas y vino blanco. El consumo se inició alrededor de las 13.00 Horas. Algunas horas después, comenzaron a presentarse varios casos de gastroenteritis entre los asistentes. La distribución de la enfermedad en términos de tiempo, espacio y personas permitió establecer la presunción de una fuente común, probablemente asociada al consumo de un alimento.

Epidemiología

Frente a la sospecha de un brote de origen alimentario se inició, de inmediato, una encuesta a 41 personas en riesgo. El resto de los asistentes salieron del país, por lo que no pudieron ser incluidos en la encuesta. Se utilizó un cuestionario donde se registró: nombre, alimentos y bebidas consumidas, síntomas, hora de aparición y duración (3). Se definió un "caso" como toda persona que asistió al "lunch" y presentó retortijones y/o diarrea. Se utilizó la prueba de χ^2 para determinar la asociación entre los alimentos y la enfermedad (2).

Análisis microbiológico del alimento

La muestra estuvo constituida por una empanada del mismo lote, pero sin freír, conservada en refrigeración, y fue obtenida y analizada 3 días después de la preparación (1ero de octubre). La empanada se separó en dos porciones: picadillo de carne (relleno) y masa. Estas porciones se sometieron a los siguientes análisis:

- 1) Coloración de Gram del picadillo de carne,
- 2) Recuento presuntivo de *C. perfringens* en picadillo de carne,
- 3) Recuento presuntivo de esporas de *C. perfringens* en picadillo de carne y,
- 4) Recuento presuntivo de *Bacillus cereus* en masa y picadillo de carne.

Para los recuentos presuntivos de *B. cereus*, *C. perfringens* y esporas se sometieron a análisis 25g de muestra de cada una de las porciones. Los recuentos se realizaron según procedimientos estandarizados y se utilizó agar de Manitol yema de huevo polimixina (Difco) para el recuento de *B. cereus* y agar de triptosa sulfito cicloserina sin yema de huevo (SFP, Difco) para los recuentos presuntivos de *C. perfringens* y sus esporas (1).

La caracterización bioquímica de 5 colonias presuntivas de *C. perfringens* se realizó sobre la base de la fermentación de la lactosa, la hidrólisis de la gelatina, la reducción del nitrato, la confirmación de la inmovilidad y la puesta en evidencia de la alfa toxina o fosfolipasa C con suero *C. welchii* tipo A (Wellcome).

Preparación de los alimentos consumidos

Sólo se entrevistó al preparador de; restaurante que elaboró, en esa ocasión, 270 unidades de empanadas. Los canapés y las masas dulces se elaboraron en otro establecimiento.

Resultados

Tasa de ataque y período de latencia

De las 41 personas incluidas en la encuesta, 23 (56%) desarrollaron un síndrome típico de gastroenteritis. La mediana del período de latencia fue 10.00 Hs y el rango 0,5-15.00 Hs. Los porcentajes de los síntomas fueron: cólicos abdominales 100%, diarrea 87%, náuseas 35% y vómitos 9%.

La hora de presentación de los casos se muestra en la Fig. 1. La mediana de duración de los síntomas fue de 3.00 Hs. Las empanadas de carne fritas mostraron la mayor diferencia (riesgo atribuible) entre las dos tasas de ataque (46%): alta para el grupo de comensales que las consumió y enfermó y baja para el grupo que también enfermó pero no las consumió (Cuadro I). La prueba de χ^2 ($p < 0.05$) mostró una franca asociación con el consumo de empanadas.

La mediana del período de latencia (10 Hs.) junto con el rango y los síntomas predominantes orientó la búsqueda, en las empanadas, hacia agentes microbianos causales de gastroenteritis. Estos antecedentes permitieron formular la hipótesis de que los agentes implicados podrían ser *C. perfringens* o *Bacillus cereus*.

Análisis microbiológicos del alimento

Los resultados microbiológicos fueron: 1) Se observó la presencia de bastones Gram positivos a razón de 4-6 por campo, en la coloración efectuada al picadillo de carne, 2) El recuento de células vegetativas de *C. perfringens* resultó 2.6×10^6 UFC/g en el picadillo de carne, 3) El recuento de esporas de *C. perfringens* fue 3.0×10^2 UFC/g de picadillo de carne, y 4) El recuento de *B. cereus* fue $< 1.0 \times 10^2$ UFC/g en ambas porciones de la muestra.

Preparación de los alimentos consumidos

La preparación de empanadas se inició el 27 de septiembre a las 19.30 Hs, momento en que comenzó la elaboración del relleno, sobre la base de carne picada adquirida comercialmente. La cocción de 6 kilos de carne picada se realizó en una olla de 35 x 30 cm (altura x diámetro) llegando la carne a una altura de 23 cm. Se agregó comino, ají molido, pimentón, pasas de uva, cebollas de verdeo y comunes rehogadas en aceite y sal. Al día siguiente se agregó huevo duro (Fig.2),

La cocción duro aproximadamente 20 minutos a fuego reducido. A su término se procedió al enfriamiento en la misma olla durante 1 hora a la temperatura del ambiente, en un sector adyacente a la cocina, alejado de las hornallas. Con cierta frecuencia se revolvió el picadillo con un cucharón de madera, para ayudar al enfriamiento. Aproximadamente a las 21.00 Hs se fraccionó el picadillo en dos recipientes plásticos (de 20 cm de altura, aproximadamente) que se conservaron con sus respectivas tapas en una heladera industrial, bastante cargada.

Las masas de empanadas -adquiridas en el comercio- se comenzaron a rellenar el 28 de septiembre, aproximadamente a las 8.30 Hs. Una vez armadas se frieron por inmersión 8 unidades por vez, en aceite durante aproximadamente 2 a 3 minutos. A medida que se completaba la fritura, las empanadas se colocaban en bandejas de cartón -en dos capas de 10 unidades cada una- y de inmediato se empaquetaban en grupos de 20 unidades. Los paquetes así preparados, se mantuvieron a la temperatura del ambiente de la cocina. Aproximadamente a las 11.30 Hs los paquetes fueron retirados del restaurante.

Discusión

El factor determinante del brote fue el enfriamiento inadecuado del picadillo de carne, que permitió la germinación de las esporas de *C. perfringens* que probablemente sobrevivieron a la cocción, y la multiplicación posterior de las células vegetativas generadas.

El descenso lento de la temperatura de la carne constituyó el punto crítico de control de este proceso (9). La colocación del picadillo presuntamente tibio- en recipientes con tapa en la heladera fue otro de los puntos críticos de control.

El enfriamiento inadecuado fue la causa principal que originó el 44% de brotes de origen alimentario, sobre un total de 1918 brotes que se presentaron entre 1961/1982 en EE.UU.

Igualmente, durante el mismo período, fue la causa del 79% de 141 brotes de gastroenteritis por *C. perfringens* (4).

Otro hecho que se combinó fue la utilización de una olla en lugar de una sartén. La altura de la carne en la olla fue de aproximadamente 23 cm, lo que favoreció el mantenimiento de la anaerobiosis o el bajo potencial redox generado por la cocción, que sumado al propio de la carne, favoreció la multiplicación del agente anaerobio.

La fritura de las empanadas no permitió que el relleno alcanzara, al menos, 75 °C como para destruir el número de células vegetativas que contenía el picadillo de carne en las empanadas, sin freír ($2,6 \times 10^6$ UFC/9).

Un segundo enfriamiento inadecuado se produjo cuando las empanadas inmediatamente después de haber sido fritas se empaquetaron y permanecieron en esas condiciones aproximadamente 4 horas antes del consumo. Este resultó ser otro de los puntos críticos de control

Por otro lado, pudo haber acontecido que la fritura haya realmente conseguido reducir, aunque sólo en parte, la cantidad de células vegetativas que tenían las empanadas crudas; sin embargo, el enfriamiento lento de las empanadas empaquetadas pudo haber favorecido nuevamente la propagación del agente.

El picadillo de carne pudo haberse contaminado antes o después de la cocción. Según las evidencias epidemiológicas creemos que la fuente de *C. perfringens* fue la carne cruda. Algunos estudios señalan que casi el 50% de muestras comerciales de carne vacuna picada contienen *C. perfringens* (7).

Sin embargo, otras vías de introducción del agente podrían haber sido la cuchara de madera, posiblemente contaminada, que se usó para revolver el picadillo ya preparado o esporas provenientes de las especias, las pasas de uva o la cebolla. No importa cuál fue el origen de *C. perfringens* porque sin duda el enfriamiento inadecuado fue el factor determinante del brote.

En este estudio no se realizó la búsqueda de *C. perfringens* en la materia fecal de los enfermos, teniendo en cuenta que su hallazgo, sin la evidencia epidemiológica no es suficiente para realizar el diagnóstico, ya que el 95% de los adultos posee este agente en su flora fecal (10). Además aún se discute el valor de la serotipificación de las cepas involucradas en brotes para confirmar su etiología. Trabajos recientes recomiendan serotipificar las cepas aisladas de los pacientes cuando no se cuenta con muestras del alimento involucrado epidemiológicamente, o estas dan resultados negativos (6).

Recomendaciones

Es imposible, con la tecnología actualmente en uso en el mundo, evitar la presencia, aunque en números reducidos, de *C. perfringens* en la carne cruda.

Sobre la base de este enfoque, durante la preparación de alimentos se deben tomar una serie de prevenciones para evitar que el microorganismo se multiplique. Con este propósito, se recomienda:

a) Cocer la carne picada en recipientes poco profundos -sartenes u ollas de gran diámetro- para conseguir una cocción completa y facilitar el enfriamiento posterior.

b) Una vez preparado el picadillo de carne éste se deberá enfriar rápidamente. Se procurará que la temperatura se reduzca a aproximadamente 20 °C, en no más de 2 horas, antes de colocarlo en el refrigerador. Esta operación se podrá acelerar enfriando a Baño María o con agua

corriente, revolviendo, colocando o apoyando el recipiente en un lugar fresco, dividiendo el picadillo en porciones, removiendo el aire caliente con un ventilador, etc.

c) Una vez reducida la temperatura, de ser necesario, se enfriará el picadillo a una temperatura menor de 4 °C; conviene colocarlo en capas poco profundas (de no más de 10 cm de altura) para permitir el rápido descenso de la temperatura. No es aconsejable cubrir con tapas los recipientes pues estas demoraran el enfriamiento del alimento. Es conveniente, sin embargo, cubrir los alimentos con papel de aluminio o bolsas plásticas de primer uso evitando al máximo la formación de cámaras de aire.

d) No debe retirarse el picadillo de carne del refrigerador hasta que se comience a armar las empanadas. e) Es recomendable mantener las empanadas recién cocidas a temperatura de 65 °C, o mayor o enfriarlas como se indicó en los ítems b y c. Cuando el consumo no es inmediato otra alternativa sería el recalentamiento a temperatura interna mínima de 75 °C. No es conveniente almacenar las empanadas a la temperatura del ambiente.

Cuadro N°1: Brote de Gastroenteritis asociado al consumo de empanadas de carne. Tasa de ataque, por tipo de alimento.

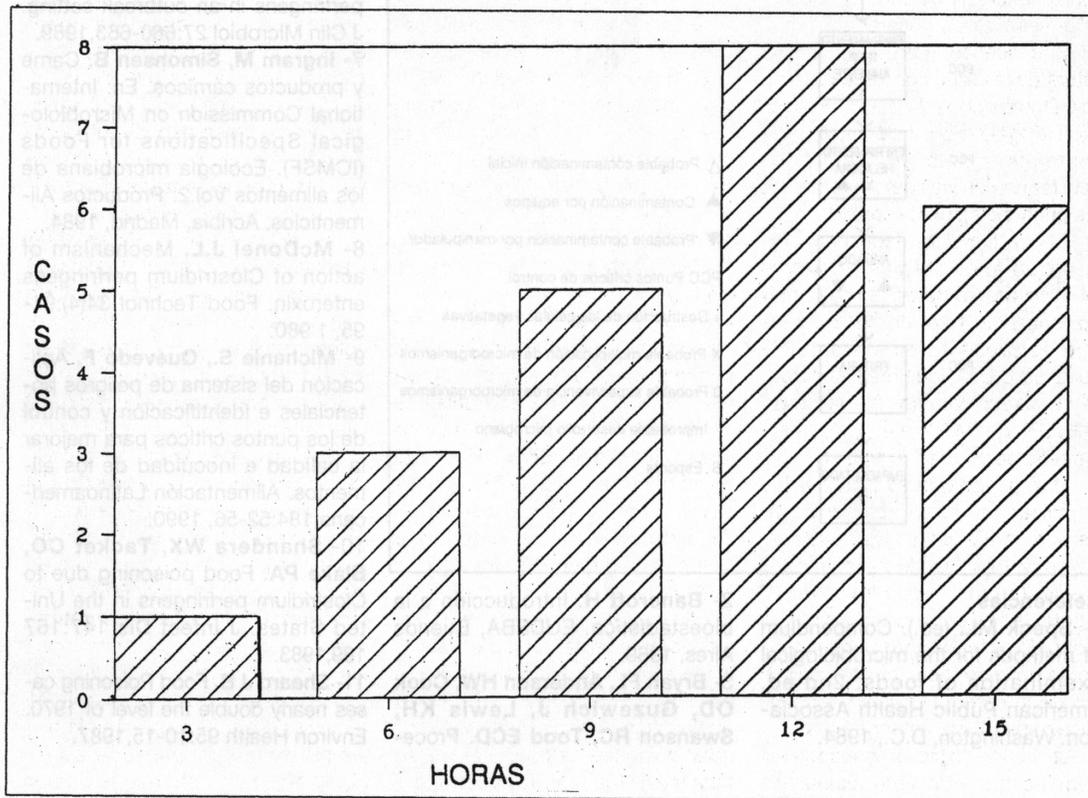
Alimento	Consumieron el Alimento			No consumieron el Alimento			Diferencia de las Tasas	Valor p
	Enf.	Total	Tasa Ataque (%)	Enf.	Total	Tasa Ataque (%)		
Empanadas	22	35	63	1	6	17	46	<0.05 ^a
Saladitos	10	16	62	13	25	52	10	NS ^b
Masas dulces	17	28	61	7	13	54	7	NS
Soda	4	5	80	21	36	58	22	NS
Gaseosas	8	11	73	17	30	57	16	NS
Vino	13	19	68	12	22	55	13	NS

a: Prueba de Chi²
b: No significativo

Agradecimientos

A Mónica Tysko por su cooperación en el laboratorio. A Norma del Punta y Ana Digon por sus valiosos comentarios.

Fig.1: Hora de presentación de signos y síntomas



La Alimentación Latinoamericana N° 194 • 1993 • 53

Referencias

- 1- Speck ML. (ed.). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 2nd ed. American Public Health Association. Washington, D.C., 1984.
- 2- Bancroft H. Introducción a la bioestadística. EUDEBA, Buenos Aires, 1969.
- 3- Bryan FL, Anderson HW, Cook OD, Guzewich J, Lewis KH, Swanson RC, Tood ECID. Procedures to investigate foodborne illness. 4th ed. International Association of Milk, Food and Environmental Sanitarians. Ames, Iowa, 1987.
- 4- Bryan FL. Risk of practices, procedures and processes that lead to outbreaks of foodborne diseases. J. Food Prot 51: 663-673, 1988.
- 5- Craven SE. Growth and sporulation of Clostridium perfringens in Foods. Food Technol 34(4): 8087,95, 1980,
- 6- Gross TP, Kamara LB, Hatheway CL, Powers P, Libonati JP, Harmon SM, Israel E. Clostridium perfringens in an outbreak setting. J Clin Microbiol 27:660-663,1989.
- 7- Ingram M, Simonsen B. Carne y productos cárnicos. En: International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF). Ecología microbiana de los alimentos Vol.2: Productos Alimenticios. Acribia, Madrid, 1984.

8- McDonel J.L. Mechanism of action of *Clóstridium perfringens* enterotoxin. Food Technol 34(4):9195, 1980.

9- Michanie S., Quevedo F. Aplicación de sistema de peligros potenciales e identificación y control de los puntos críticos para mejorar la calidad e inocuidad de los alimentos. Alimentación Latinoamericana 184:52-56, 1990.

10- Shandera WX, Tacket CO, Blalke PA. Food poisoning due to *Clostridium perfringens* in the United States. J Infect Dis 147:167-169, 1983.

11 - Sheard J B. Food Poisoning cases nearly double the level of 1970. Environ Health 95:10-15, 1987.

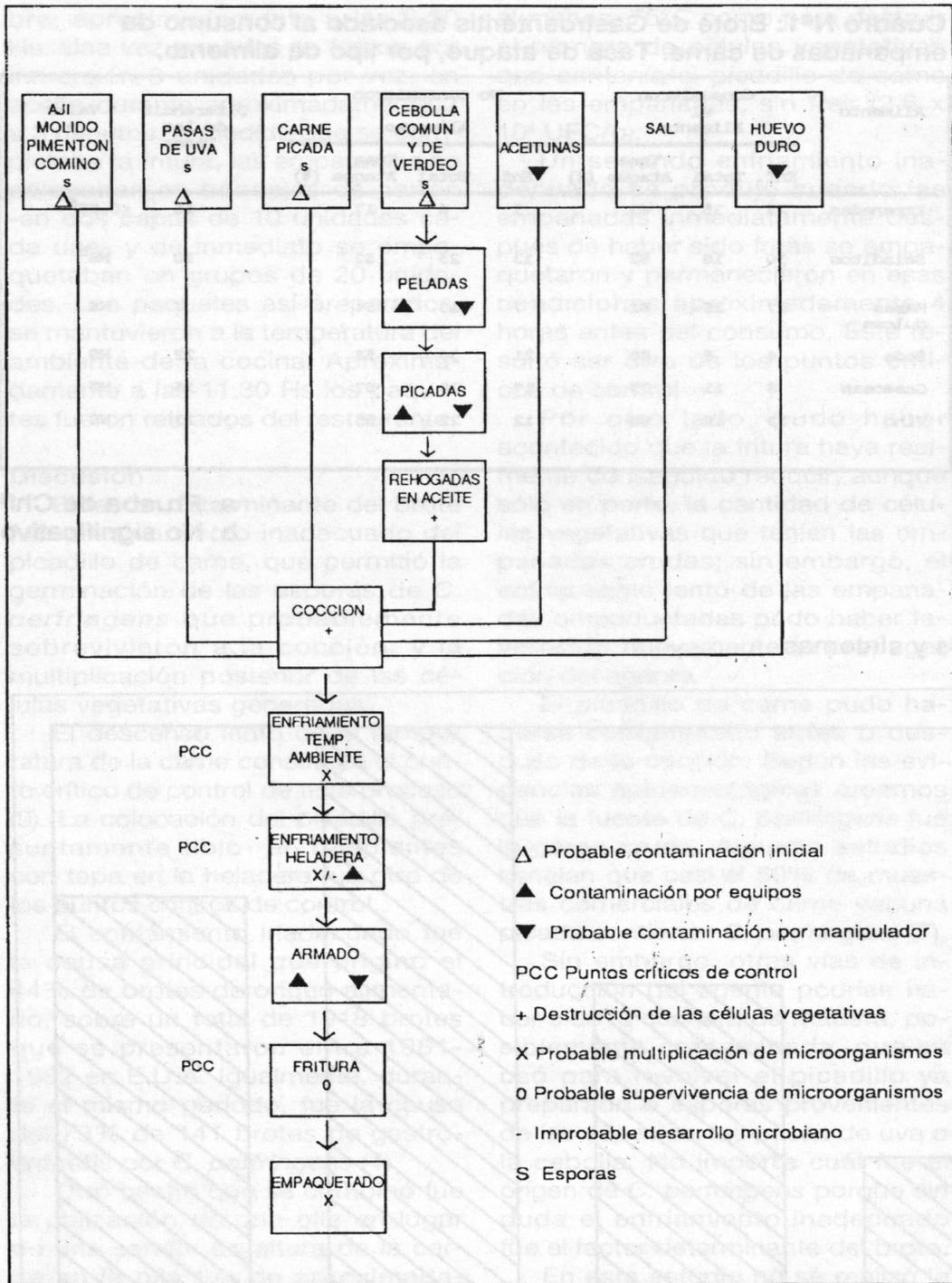


Fig.2: Diagrama de flujo de preparación de empanadas de carne fritas