



## Documentos

# ***Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos***

*Perfil de riesgo de Escherichia coli  
enterotoxigénica y verotoxigénica en queso fresco*



# DOCUMENTOS DE EVALUACIÓN DE RIESGOS EN INOCUIDAD DE ALIMENTOS

Perfil de riesgo de *Escherichia coli*  
enterotoxigénica y verotoxigénica en queso fresco

REPÚBLICA DE COLOMBIA  
MINISTERIO DE SALUD Y PROTECCIÓN SOCIAL  
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

Bogotá, D.C., 2015

**ALEJANDRO GAVIRIA URIBE**  
Ministro de Salud y Protección Social

**NORMAN JULIO MUÑOZ MUÑOZ**  
Viceministro de Protección Social

**FERNANDO RUIZ GÓMEZ**  
Viceministro de Salud Pública  
y Prestación de Servicios

**MARTHA LUCIA OSPINA MARTÍNEZ**  
Directora General Instituto Nacional de Salud

**MÁNCEL ENRIQUE MARTÍNEZ DURAN**  
Director de Vigilancia y Análisis  
de Riesgo en Salud Pública

**OSCAR EDUARDO PACHECO GARCÍA**  
Subdirector de Prevención Vigilancia  
y Control en Salud Pública

**HERNÁN QUIJADA BONILLA**  
Subdirector de Análisis del Riesgo y  
Respuesta Inmediata

**YULY ANDREA GAMBOA MARÍN**  
Líder Grupo de Evaluación de Riesgos en  
Inocuidad de Alimentos ERIA

**GRUPO DE COMUNICACIÓN DEL RIESGO**



Evaluación de Riesgo en  
Inocuidad de Alimentos

Perfil de riesgo de *Escherichia coli* enterotoxigénica y  
verotoxigénica en queso fresco

Instituto Nacional de Salud (INS)  
Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA)

ISSN: 2422-0965

Para citar: Instituto Nacional de Salud, Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos. **Perfil de riesgo de *Escherichia coli* enterotoxigénica y verotoxigénica en queso fresco.** Página. Bogotá, D. C., Colombia. 2015

Todos los derechos reservados. El Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA), autoriza la reproducción y difusión del material contenido en esta publicación para fines educativos y otros fines NO comerciales, sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor, especificando claramente la fuente. El Grupo ERIA, prohíbe la reproducción del material contenido en esta publicación para venta, reventa u otros fines comerciales, sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor. Estas solicitudes deben dirigirse al Grupo ERIA, Avenida calle 26 No 51-20, Bloque B Of 250 o al correo electrónico [eria@ins.gov.co](mailto:eria@ins.gov.co).

ERIA 2015  
Todos los derechos reservados  
Bogotá D.C., Colombia 2015

GRUPO DE REDACCIÓN  
(Por orden alfabético)

Natalia Milena ACOSTA AMADOR  
Microbióloga, Esp. en Epidemiología,  
Magister en Administración en Salud,  
Magister en Gerencia de Programas Sanitarios

Ana Karina CARRASCAL CAMACHO  
Bacterióloga, M. Sc. en Microbiología

Eduardo Corpas Iguarán  
Bacteriólogo, Ph. D. (c) Ciencias Agrarias

Diana Ximena CORREA LIZARAZO  
Ingeniera de alimentos, MSc. en Ciencia de los Alimentos

María Clementina CUETO VIRGIL  
Bacterióloga, M. Sc. en Ciencias

Nadenka MELO BRITO  
Microbióloga, M. Sc. en Ciencias, Ph. D. (c) en Educación

Maria Pilar MONTOYA GUEVARA  
Microbióloga Agrícola y Veterinaria,  
Magister en Gerencia de Programas Sanitarios

## REVISORES CIENTÍFICOS INTERNACIONALES

(Por orden alfabético)

**Fernando SAMPEDRO**, PhD, Assistant Professor-Risk Assessment, Center for Animal Health and Food Safety (CAHFS), College of Veterinary Medicine, University of Minnesota.

**Gerardo LEOTTA**, Investigador Adjunto (CONICET), Profesor Adjunto Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata (UNLP)

## REVISORES CIENTÍFICOS NACIONALES

(Por orden alfabético)

**José Antonio CHAVES YELA**, Ingeniero de Alimentos, Especialista en epidemiología

**Yuly Andrea GAMBOA MARÍN**, Bacterióloga y Laboratorista Clínico, M. Sc. Microbiología. Mg. Gerencia de Programas Sanitarios y de Inocuidad de Alimentos

**Jaime Alberto GUERRERO MONTILLA**, Químico de Alimentos, Especialista en Ciencia y Tecnología de los Alimentos

**Amanda Carolina MORA GUZMÁN**. Ingeniera Química, M. Sc. Ciencia y tecnología de los Alimentos

**Marlib Paloma SÁNCHEZ TORRES**, Médica, M. Sc. toxicología

**Sandra Nayibe VEGA FERIZ**, Ingeniera de Alimentos, M. Sc. Ciencia y Tecnología de Alimentos M. Sc. Gestión y Seguridad Alimentaria

## AGRADECIMIENTOS

El grupo de redacción da los agradecimientos a Ministerio de Salud y Protección Social, especialmente a la Ingeniera Claudia Patricia Moreno Barrera, por su interés y compromiso en el tema. Al Ministerio de Industria y Comercio, por suministrar información sobre el volumen de quesos importados. A la Dirección de Alimentos y Bebidas y a la Oficina de Laboratorios y Control de Calidad del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y alimentos (INVIMA), por el envío oportuno de los datos. A Joseph Ruano por la diagramación de las diversas figuras que se presentan en este documento.

## RESUMEN

El grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos (ERIA) a través de un panel de expertos y por solicitud del Ministerio de Salud y Protección Social, realizó un Perfil de Riesgo con miras a identificar los factores de riesgo por *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) y verotoxigénica (VTEC), asociados al consumo de queso fresco en Colombia. Este documento contiene la caracterización del peligro y de la cadena productiva de queso fresco, las fuentes de contaminación, los efectos adversos sobre la salud, la evaluación de la exposición y finalmente presenta las medidas de control.

*Escherichia coli* es una bacteria habitual del tracto intestinal de los animales, incluido el hombre. Actualmente, seis (6) categorías son consideradas patógenas en humanos, por sus factores de virulencia, dentro de los cuales se destacan *E. coli* ETEC y *E. coli* VTEC como las de mayor impacto en salud pública. Ambas cepas producen enfermedad y complicaciones en la salud de las personas cuando se consumen alimentos contaminados con estas bacterias. Dentro de los derivados lácteos, los quesos frescos son los de mayor consumo y comercialización en el país; pueden ser elaborados en forma artesanal o industrial, siendo los primeros aquellos que tienen una mayor probabilidad de contaminación al ser manufacturados bajo condiciones higiénicas deficientes o sin aplicación de procesos de pasteurización.

De acuerdo con la información encontrada se pudo establecer que los quesos frescos se comercializan en todo el país, siendo el queso campesino el de mayor venta; existen zonas del país donde hay producción de quesos típicos como el queso antioqueño (Antioquia), queso costeño (Costa Atlántica), quesillo huilense o tolimense, queso molido nariñense (Nariño) y el queso doble crema; aunque estos quesos difieren en su composición y procesamiento, estas variaciones no inhiben la presencia de *E. coli* ETEC y VTEC .

Durante la revisión bibliográfica realizada, se identificaron las posibles fuentes de contaminación con ETEC y VTEC asociados al consumo de queso fresco: para ETEC, el hombre, por ser portador asintomático se convierte en el principal vehículo de contaminación; para VTEC, el hombre también puede ser portador asintomático aunque los animales rumiantes y de granja son los principales reservorios, a partir de los cuales se puede contaminar la leche empleada para



la elaboración del queso. De igual manera, la ausencia de pasteurización o fallas en ésta, permite la sobrevivencia de estas bacterias en el queso.

No fue posible establecer el impacto que tienen estos microorganismos asociados a brotes de Enfermedad Transmitida por los Alimentos (ETA) en Colombia debido a que en el país no se realiza la serotipificación de las cepas, lo que dificulta su correlación. Adicionalmente, con la información disponible no es posible determinar casos de Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) asociados a VTEC. Ante la ausencia de información suficiente se estimó el riesgo usando el modelo de *risk ranger* encontrando que es mayor el impacto en salud por VTEC que por ETEC.

Por último se determinó que la medida de control más importante es la pasteurización de la leche con la que se elaboran quesos frescos; de otro lado, debido a la ausencia de datos (prevalencia de ETEC y VTEC en quesos, datos de consumo, datos de porción, cantidad de *E. coli* presente en quesos, serotipos circulantes en el país), no se justifica la realización de una evaluación de riesgos en la combinación peligro/alimento estudiada.

## Contenido

JUSTIFICACIÓN, TÉRMINOS DE REFERENCIA, ALCANCE Y OBJETIVOS....	14
JUSTIFICACIÓN .....	14
TÉRMINOS DE REFERENCIA.....	15
ALCANCE.....	16
1    INTRODUCCIÓN.....	18
2    COMBINACIÓN PELIGRO/ALIMENTO .....	20
2.1 <i>ESCHERICHIA COLI</i> ENTEROTOXIGÉNICA Y VEROTOXIGÉNICA.....	20
Taxonomía .....	20
Serotipos de ETEC .....	21
Serotipos de VTEC.....	22
2.2    CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	22
<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica (ETEC).....	22
<i>Escherichia coli</i> verotoxigénica (VTEC).....	23
Fuentes de contaminación .....	26
2.3    MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO ETEC Y VTEC .....	27
Detección ETEC .....	27
Detección de VTEC.....	28
2.4    QUESO FRESCO .....	30
Características generales del alimento: el queso .....	30
Producción mundial.....	30
Producción en Colombia.....	31
Balanza Comercial .....	31
Cadena productiva.....	33
2.5    PRESENCIA DEL PELIGRO EN LA CADENA ALIMENTARIA .....	38
Contaminación por ETEC y VTEC en la extracción de la leche cruda .....	38
Fuentes de contaminación durante la elaboración del queso fresco ..	41
3    EFECTOS ADVERSOS A LA SALUD ASOCIADOS CON <i>E. COLI</i> ....	44
3.1    DESCRIPCIÓN DE LA ENFERMEDAD.....	44
<i>E. coli</i> enterotoxigénica (ETEC).....	44
<i>E. coli</i> verotoxigénicas VTEC .....	45
3.2    GRUPO RIESGO .....	48
Grupo de riesgo para ETEC .....	48
Grupo de riesgo para VTEC .....	48

3.3	INFORMACIÓN EPIDEMIOLÓGICA EN EL CONTEXTO INTERNACIONAL .....	48
	Prevalencia ETEC y VTEC.....	48
	Brotos por <i>E. coli</i> ETEC y VTEC en el contexto internacional.....	49
	Incidencia de casos .....	52
3.4	INFORMACIÓN EPIDEMIOLÓGICA EN EL CONTEXTO NACIONAL .....	53
	Prevalencia de ETEC y VTEC en quesos .....	53
	Brotos en Colombia .....	53
3.5	DOSIS-RESPUESTA .....	54
3.6	EVALUACIÓN DE RIESGOS .....	55
3.7	CASOS Y CONTROLES .....	55
3.8	TRANSMISIÓN SECUNDARIA.....	55
3.9	CARGA DE LA ENFERMEDAD .....	55
3.10	REGLAMENTACIÓN INTERNACIONAL Y NACIONAL.....	56
4	EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN .....	<b>58</b>
4.1	DATOS DE CONSUMO .....	58
	Consumo de queso fresco en el ámbito internacional. ....	58
	Consumo de queso fresco en Colombia.....	58
4.2	CARGA EN EL ALIMENTO.....	59
	Cálculos de la exposición para ETEC .....	59
	Cálculo de la exposición para VTEC .....	60
5	MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL.....	<b>62</b>
6	CARENCIA DE DATOS Y FUTURAS NECESIDADES DE INVESTIGACIONES.....	<b>66</b>
7	CONCLUSIONES .....	<b>70</b>
8	RECOMENDACIONES.....	<b>72</b>
	GLOSARIO.....	<b>78</b>
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	<b>80</b>
	ANEXOS .....	<b>94</b>

## Lista de tablas

Tabla 1. Serotipos de <i>Escherichia coli</i> ETEC .....	21
Tabla 2. Patotipos de VTEC. ....	22
Tabla 3. Condiciones de crecimiento para ETEC .....	23
Tabla 4. Condiciones de crecimiento para VTEC .....	24
Tabla 5. Métodos de diagnóstico utilizados para detección de ETEC y VTEC .....	29
Tabla 6. Volumen de quesos frescos importados .....	32
Tabla 7. Exportación de queso fresco colombiano (2007-2012) .....	32
Tabla 8. Producción de leche en Colombia .....	34
Tabla 9. Características de los principales quesos frescos producidos en Colombia .....	37
Tabla 10. Fuentes de contaminación de ETEC y VTEC en el procesamiento de quesos frescos .....	43
Tabla 11. Prevalencia de <i>E. coli</i> en quesos a nivel internacional.....	49
Tabla 12. Brotes asociados al consumo de quesos contaminados con ETEC y VTEC. ....	51
Tabla 13. Incidencia por 100.000 habitantes en diferentes países. ....	52
Tabla 14. Modelos de dosis respuesta aplicados a <i>E. coli</i> O157.....	54
Tabla 15. Consumo de queso por grupo etario en Colombia.....	59
Tabla 16. Criterios empleados para la estimación del Ranking de Riesgo para ETEC y queso fresco .....	60
Tabla 17. Criterios para la estimación del Ranking de riesgo para VTEC en queso fresco.....	61

## Lista de figuras

Figura 1	Clasificación taxonómica de Escherichia coli .....	21
Figura 2	Distribución de los quesos frescos elaborados en Colombia. ....	36
Figura 3	Fuentes de contaminación por ETEC y VTEC en granja .....	39
Figura 4	Contaminación con ETEC y VTEC durante el ordeño .....	40
Figura 5	Brotos asociados a consumo de queso con aislamiento de E. coli en 2011-2014. ....	53

## Lista de anexos

Anexo A	Diagramas de flujo queso campesino y costeño .....	94
Anexo B.	Etapas industriales del queso fresco.....	96
<b>Anexo C</b>	<b>Factores de virulencia de ETEC.....</b>	<b>98</b>
Anexo D.	Factores de virulencia VTEC .....	100

# Justificación, términos de referencia, alcance y objetivos

## Justificación

Las enfermedades infecciosas transmitidas por aguas y alimentos son comunes en Colombia, Latinoamérica y el resto del mundo. El Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de Atlanta en EEUU (CDC, por sus siglas en inglés), estima que cada año se enferman 48 millones de personas por Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), 128.000 son hospitalizadas y 3.000 llegan a morir (1). El CDC calcula que el costo de las ETA en los EEUU alcanzan los 16,5 billones de dólares al año.

La etiología de las ETA es variada, pueden estar implicados los virus, parásitos y bacterias, estas últimas pueden segregar potentes enterotoxinas que contaminan los alimentos. *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp., *Staphylococcus aureus* y los diferentes virotipos o cepas patógenas de *E. coli* son las bacterias más comunes en las ETA. *E. coli* posee varios serotipos importantes en salud pública, como *E. coli* verotoxigénico y *E. coli* enterotoxigénico, este último es el causante principal de la enfermedad diarreaica aguda en los países en vía de desarrollo (2-4). Se cree que cada año enferman por este virotipo 210 millones de personas y se estiman 380.000 muertes, la mayoría en pacientes pediátricos. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) *E. coli* enterotoxigénico es también la principal etiología de la diarrea del viajero y comúnmente afecta a las tropas extranjeras de países desarrollados cuando están en misiones en países tropicales.

El grupo *E. coli* verotoxigénica (VTEC) es probablemente el más virulento debido a las dos verotoxinas o toxinas similares a las de *Shigella* (*shiga-like-toxin*); VTEC es considerado un problema de salud pública debido a que puede producir una enterocolitis hemorrágica que algunas veces desencadena en pacientes pediátricos y de edad avanzada el Síndrome Urémico Hemolítico. El serotipo

más prevalente es *E. coli* O157:H7, aunque existen otros como O26, O45, O103, O111, O121 y O145 (3, 5-6). El reservorio principal del microorganismo es el ganado bovino, no obstante también se encuentra en porcinos y en animales silvestres. El principal alimento con el que se ha relacionado es la carne (molida, recortes y hamburguesas). Los mercados internacionales (americanos y europeos) exigen que en carne destinada a la elaboración de carne molida la búsqueda de los serogrupos O26, O45, O103, O111, O121, O145 y O157.

De acuerdo con el CDC de EEUU se cree que más de 265.000 casos suceden anualmente en ese país por microorganismos enterohemorrágicos, el 36% de estos son causados por *E. coli* O157:H7 (7). En Estados Unidos y Europa, esta bacteria también ha sido reportada en leche y sus derivados, jugos y aguas. En Colombia existen estudios donde se ha demostrado su presencia en carnes molidas, bovinos y en pacientes pediátricos con diarrea, sin embargo, no se ha investigado la presencia de este serotipo en leche y sus derivados (7).

En Colombia, la vigilancia de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), se notifica a través del Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (Ssivigila). De acuerdo con la información reportada al sistema durante los años 2010-2012, el alimento que se asoció en mayor proporción con brotes de ETA fue el queso, donde los microorganismos aislados con mayor frecuencia fueron *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo y *E. coli*, siendo el queso costeño proveniente de los departamentos de la Costa Atlántica el más frecuente. Por su parte, el reporte del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) sobre vigilancia en derivados lácteos rechaza productos por la presencia de patógenos como *E. coli*, sugiriendo la necesidad de conocer la dinámica de este patógeno en quesos frescos.

## **Términos de referencia**

### **Pregunta 1.**

¿Cuáles son los tipos de queso fresco que se elaboran y comercializan por región en el país?

### **Pregunta 2.**

¿Cuáles son los factores de riesgo asociados a la presencia de cepas de *E. coli* patógenas en la producción de queso fresco?

### Pregunta 3.

De acuerdo a los factores identificados previamente, ¿Cuáles son las medidas de control para *E. coli* patógenas en la producción de queso fresco en el país?

#### Alcance

El panel de expertos acordó con el Gestor incluir en este perfil únicamente quesos frescos elaborados con leche de origen bovino y para *E. coli* verotoxigénica (VTEC) (O157:H7; O111 y O26) y *E. coli* enterotoxigénica (ETEC). No se incluirá el serotipo O104:H4 ya que si bien cumple los criterios de verotoxigénica, posee factores de adherencia de EAEC.

*Nota aclaratoria. Debido a los avances en el conocimiento de E. coli (VTEC), a la fecha se han incluido nuevos serotipos en este grupo (O45, O103, O121, O145), que no objeto de este perfil por que no corresponde a la vigencia en el desarrollo del mismo.*





# 1 Introducción

La bacteria *Escherichia coli* es un bacilo Gram-negativo que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, es habitante normal del tracto intestinal de animales y también se encuentra habitualmente en el ser humano, se puede encontrar en el medio ambiente ya que es capaz de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los alimentos, de manera que su aislamiento en los mismos es indicador de contaminación fecal (8). Aunque la mayoría de las cepas son saprófitas, algunos serotipos pueden causar infecciones, ya que han adquirido diversos factores de virulencia que les permiten causar un amplio espectro de enfermedades incluyendo enfermedades diarreicas, infecciones urinarias, sepsis y meningitis (8-9). Hasta la fecha se consideran seis grupos, de acuerdo con los mecanismos de patogénesis y los factores de virulencia que poseen las cepas de *E. coli* diarreogénicas (también denominadas patotipos):

1. *Escherichia coli* enteropatogénicos (EPEC),
2. *Escherichia coli* enterotoxigénicos (ETEC),
3. *Escherichia coli* enteroinvasivos (EIEC),
4. *Escherichia coli* enterohemorrágicos, verotoxigénicos o productores de toxinas Shiga (EHEC/VTEC/ STEC),
5. *Escherichia coli* enteroagregativos (EAEC),
6. *Escherichia coli* con adherencia difusa (DAEC),

De estos grupos, la literatura internacional reporta que *E. coli* verotoxigénica o productora de toxinas Shiga (referida de aquí en adelante como VTEC), es el grupo patogénico más importante en humanos, por la frecuencia y severidad de la enfermedad que causa (1, 8-9). Esta bacteria, tiene como principal reservorio a los rumiantes, siendo el ganado bovino el vehículo más importante de transmisión. Así mismo, este microorganismo puede contaminar la leche durante los procesos de ordeño y sobrevivir en quesos elaborados que no han sido sometidos a procesos de pasteurización. Para el caso de países en vía de desarrollo, se ha determinado que ETEC causa enfermedad asociada al consumo de alimentos y agua contaminados (10). Debido a que el hombre es el principal reservorio, las deficiencias higiénico-sanitarias durante los procesos de

manufactura pueden favorecer la incorporación del microorganismo a la cadena productiva.

En Colombia, el promedio de consumo anual de queso por habitante es de 1,1 Kg; correspondiendo principalmente a quesos frescos. Este valor se considera bajo si se compara con los de otros países (11-12). Los quesos en el país son elaborados de manera industrializada a partir de leche pasteurizada, y de manera artesanal donde rara vez se emplean procesos de pasteurización para la leche, aumentando el riesgo de contener bacterias como *E. coli* patógenas.

Atendiendo la solicitud del Gestor, este perfil busca establecer cuáles son los factores de riesgo asociados a la presencia de *E. coli* ETEC y VTEC en quesos frescos producidos en Colombia, así como determinar la necesidad o no de realizar una evaluación de riesgos posterior.

## 2 Combinación peligro/alimento

### 2.1 *Escherichia coli* enterotoxigénica y verotoxigénica

#### Taxonomía

*Escherichia coli*, es una bacteria *Gram* negativa, que hace parte de la familia *Enterobacteriaceae* y pertenece a una de las cinco especies del género *Escherichia*. Este microorganismo es un habitante normal en el intestino de los seres humanos y de los animales, principalmente los de sangre caliente (13). La mayoría de las cepas de *E. coli* son inofensivas, sin embargo, hay un grupo de *E. coli*, consideradas como patógenas que causan enfermedades diarreicas en los seres humanos. Las cepas de *E. coli* pueden ser clasificadas como comensales, patógenos extra-intestinales (ExPEC) y patógenos intestinales (entéricos o diarreicos) (6).

Las cepas consideradas como patógenos intestinales, a su vez han sido clasificadas en seis grupos dependiendo de los factores de virulencia y su interacción con las células del hospedero (6, 13): *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* verotoxigénica (VTEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (CEEA) y *E. coli* adherencia difusa (DAEC) (14); sin embargo, existen algunas cepas patógenas que no han sido caracterizadas (5). De éstos, los cuatro primeros grupos son reconocidos por transmitirse a través de agua o alimentos contaminados (15).

En la Figura 1 se presenta un esquema de la clasificación taxonómica actual de *E. coli*.

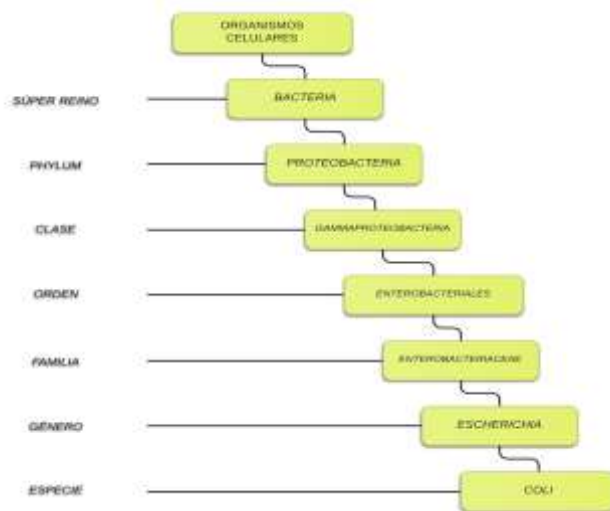


Figura 1. Clasificación taxonómica de *Escherichia coli*  
Fuente: análisis equipo de trabajo UERIA

Los aislamientos de *E. coli*, al igual que otras enterobacterias, se diferencian serológicamente por los antígenos somáticos (O), flagelar (H) y capsular (K). Dentro de la especie, se han identificado más de 200 serotipos O (16), 112 H (17) y 80 K (3). La combinación específica de los antígenos O y H define el serotipo de *E. coli* (6). Los serogrupos pueden ser asociados con patologías específicas, pero los antígenos por sí mismos no confieren la virulencia (6).

### Serotipos de ETEC

Se han encontrado alrededor de 150 combinaciones O:H entre los serotipos de las cepas aisladas de humanos (6). Entre los grupos O los más comunes son O8, O128, O153, O159 y O43. Por otra parte, hay 34 serotipos H relacionados con ETEC (18). En la Tabla 1 se presenta una lista actualizada de los serotipos de *E. coli* ETEC.

Tabla 1. Serotipos de *Escherichia coli* ETEC

GRUPO	SEROTIPO
ETEC	O6:H-, O6:H16, O8:H-, O8:H9 O11:H27, O15:H11, O20:H-, O25:H-, O25:H42 O27:H-, O27:H7, O27:H20, O78:H11/H12, O80, O85, O85:H7, O92, O114:H21, O115:H21, O126:H9, O128 <sub>ac</sub> :H27, O139, O148:H28; O149:H4; O149:H10, O114:H21, O153:H45; O159:H-, O159:H4, O159:H20; O166:H27, O167, O167:H5, O169:H41, O173:H-

Fuente: (6, 19-20).

## Serotipos de VTEC

En este grupo se han reportado más de 400 serotipos diferentes, no todos asociados a enfermedad en el hombre (21); algunos prevalentes y de gran incidencia en salud pública como los serotipos O157:H7, O26, O91, O103, O104, O111, O113, O117, O118, O121, O128 y O145, (17, 22). El serotipo O157:H7 es considerado el más importante, ya que se estima que cerca del 50% de las infecciones son asociadas a éste (23). Actualmente, se han clasificado en cinco patotipos, siendo de especial interés en humanos los grupos A y B (Tabla 2).

Tabla 2. Patotipos de VTEC.

PATOTIPO	SEROGUPOS RELEVANTES
A	O157.
B	O26, O45, O103, O111, O121, O145.
C	O5, O91, O104, O165, y otras.
D	O7, O69, O113, O117, O132, y otras.
E	O6, O8, O39, O46, O76, O84, y otras.

Fuente: (24)

## 2.2 Características generales

### *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC)

La primera descripción realizada de ETEC en humanos fue en 1960, en Compton, (California), donde los aislamientos obtenidos en muestras de materia fecal provenientes de niños, contenían este serotipo (25); posteriormente, en 1970 las cepas fueron aisladas de muestras de materia fecal de dos soldados americanos participantes de la Guerra en Vietnam, los cuales presentaban un cuadro clínico sugestivo de colitis, demostrándose que la cepa ETEC era capaz de infectar también adultos (26).

### Toxinas

ETEC produce cuatro toxinas, dos termolábiles LT-I y LT-II (27); de 86 KDa cuya secuencia, antigenicidad y función son similares (5); y dos termoestables, STa (28) y STb (29-30), con un peso molecular aproximado de 4 KDa. Estas toxinas pueden resistir ebullición por 30 minutos (5).

## Crecimiento

En general las condiciones de crecimiento para *E. coli* (ETEC) son similares a las de *E. coli* genéricas; en la Tabla 3 se encuentran descritas estas características.

Tabla 3. Condiciones de crecimiento para ETEC

	Mínimas	Óptimas	Máximas
Temperatura (°C)	7-8*	35-40	44-46
pH	4.4	6-7	9.0
a <sub>w</sub>	0.95	0.995	-

Fuente: (31).

\* Algunas cepas de ETEC pueden crecer a menos de 6,5°C (32).

Atmósfera: Esta bacteria es anaerobia facultativa, por lo cual puede crecer en presencia de oxígeno (33).

## Inactivación

El valor  $D_{65^{\circ}\text{C}}$ , para *E. coli* es de 6,8 seg en leche (34).

## Sobrevivencia ETEC

Se ha descrito la sobrevivencia de *E. coli* ETEC inoculada en ceviche acidificado con jugo de limón a un valor de pH de 5.0 siendo insuficiente para reducir concentraciones de  $10^8$ m.o./g (33). Puede resistir un pH de hasta 2.5 en alimentos acidificados refrigerados, así como en la mucosa intestinal de animales (32). El microorganismo es capaz de sobrevivir por varias semanas, incluso meses en carnes, frutas, helados y yogurt congelado a -18°C (32).

## *Escherichia coli* verotoxigénica (VTEC)

*Escherichia coli* productor de toxina Shiga (STEC) fue descrito por primera vez en 1977 por Knowalchuk, quien reportó que cepas de los serogrupos O18, O26, O111 y O128 aisladas de niños con diarrea, producían una toxina a la que se le denominó Verotoxina, debido al efecto citotóxico en células Vero (3). En 1982, se aislaron cepas de *E. coli* que producían efecto citotóxico en células HeLa, el cual podía ser neutralizado por un antisuero anti-toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo 1(35), por lo cual se le llamó (*Shiga-like toxin*). El primer informe sobre la presencia de VTEC fue realizado por Riley y sus colaboradores en 1983, quienes investigaron dos brotes de pacientes con cuadros clínicos de colitis hemorrágica posterior al consumo de hamburguesas mal cocidas en donde

se aisló el serotipo O157:H7 (36). En este mismo año, Karmali, informó sobre la asociación de ciertas enterotoxinas de *E. coli* que afectaban las células Vero y causaban síndrome urémico hemolítico (37). Estos dos descubrimientos condujeron al reconocimiento del grupo VTEC.

## Toxinas

Las toxinas Shiga Stx1 y Stx2 producidas por VTEC tienen efecto citotóxico sobre el endotelio vascular de riñón, intestino, sistema nervioso y otros órganos. Las toxinas están conformadas por dos subunidades: la subunidad A (33 kDa) es la parte biológicamente activa y la B (7,5 kDa), presente en cinco copias, es la que se une al receptor celular específico (Gb3) (38). *E. coli* VTEC incluye las cepas *E. coli* productoras de toxina capaces de causar colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico (SUH). Dichas cepas producen una o ambas toxinas Shiga, Stx1 y Stx2. La Stx1 es considerada altamente conservada, es decir, con pocas variaciones genéticas mientras que de la Stx2 se han encontrado cinco variantes genéticas (39).

## Crecimiento

En la Tabla 4 se presentan los datos más importantes del crecimiento de VTEC.

Tabla 4. Condiciones de crecimiento para VTEC

Factor	Mínimas	Óptimas	Máximas	Referencia Bibliográfica
Temperatura (°C)	8	35-40	44-45	(31)
pH	4.4*	6-7	9.0	(40)
a <sub>w</sub>	0.95	0.995	-	(41)
NaCl	0	-	6.5%	(41)

\*El crecimiento a pH ácido depende del acidulante utilizado, donde los ácidos inorgánicos inhiben menos que los ácidos orgánicos. El crecimiento se ve inhibido a pH de 5,1 en presencia de ácido acético al 0.1%v/v (40).

Atmósfera: Esta bacteria es anaerobia facultativa, se ha reportado que en presencia de altos niveles de CO<sub>2</sub> (80%) se puede inhibir su crecimiento (42).

## Sobrevivencia de VTEC

Aun cuando VTEC agrupa varios serotipos, por ser *E. coli* O157:H7 el primero documentado, los estudios se han concentrado en este patógeno. La *E. coli* O157:H7 sobrevive a 21°C en aguas contaminadas con rumen (43); hasta siete meses en suelos contaminados, dos meses o más en aguas dulces y hasta dos semanas en agua de mar (44). *E. coli* O157:H7 puede adherirse a la superficie



de las plantas y sobrevivir bien en superficies de frutas, vegetales y hierbas frescas, pudiendo multiplicarse en el agua de lavado al cabo de unos días (45). También se ha demostrado que resiste a la desecación. Puede permanecer por varios meses en mayonesa, salsas y sidra (46-47). En alimentos se ha observado que la supervivencia está influenciada por los siguientes factores: temperatura, concentración de sal y actividad de agua.

*Temperatura:* *E. coli* VTEC sobrevive bien en alimentos congelados. Se ha observado su presencia en hamburguesas almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 9 meses (43).

*pH:* puede sobrevivir a pH de 3,6 en el medio ambiente (40). Se han encontrado variaciones a la resistencia al ácido entre las cepas de VTEC (48).

*Actividad de agua* ( $a_w$ ): el crecimiento se retarda cuando la concentración de cloruro de sodio está por encima de 2.5%. En medios líquidos que contienen 6,5% de NaCl, el microorganismo crece aunque muy lentamente (41).

*Condiciones atmosféricas:* la supervivencia de *E. coli* O157:H7 en lechugas empacadas bajo condiciones de atmósferas modificadas no se ve afectada (42).

*Viables no cultivables:* existe evidencia que a bajas temperaturas las células de *E. coli* VTEC pueden entrar en el estado de células viables no cultivables en agua de río y agua de mar artificial (49); la exposición a luz solar genera formas no viables (50).

## Inactivación

La cocción a  $71^{\circ}\text{C}$  por 1 segundo inactiva *E. coli* VTEC; la radiación ionizante elimina a VTEC en jugos de frutas (51) y en hamburguesas (52). Las cepas de *E. coli* VTEC pueden ser destruidas por desinfectantes como hipoclorito de sodio al 1%, etanol al 70%, desinfectantes basados en yodo, fenol, glutaraldehído y formaldehído (40). El sistema lactoperoxidasa-tiocianato-peróxido de hidrógeno de la leche, parece no afectar el crecimiento, supervivencia e inactivación de VTEC (53).

## Fuentes de contaminación

### Fuentes de ETEC

**Humanos:** el hombre es el principal reservorio de ETEC, la presencia de la bacteria se ha observado en todos los grupos etarios con una prevalencia mayor en niños menores de 2 años (17). No existen evidencias de que la infección por ETEC se transmita por contacto de persona a persona, sin embargo, han ocurrido algunas infecciones hospitalarias probablemente por condiciones insalubres (4).

**Animales:** existe evidencia de la presencia de serotipos de ETEC en porcinos, bovinos y otros rumiantes, demostrándose una alta especificidad de huésped, sin embargo los ETEC de origen animal no son patógenos para los humanos y viceversa (54).

**Alimentos:** se ha documentado que la contaminación de alimentos con ETEC se asocia principalmente a manipuladores infectados, también al uso de agua contaminada durante la preparación. Los alimentos donde se ha demostrado la presencia de ETEC incluyen: queso Brie, quesos producidos con leche cruda, paté de pavo, carne de cangrejo, mayonesa y ensaladas (4).

**Ambientales:** algunos serotipos de ETEC han sido encontrados en nichos ambientales de granjas bovinas para producción láctea (54).

### Fuentes de VTEC

*Humanos:* la transmisión fecal-oral persona a persona ha sido reportada en grupos familiares (53).

*Animales:* el ganado bovino es el principal reservorio de esta bacteria (55); asimismo los cerdos, perros, gatos, caballos y pájaros también son reservorios de este microorganismo (20), aunque los rumiantes como ovejas, cabras, búfalos y ciervos pueden ser reservorios (53); otros animales de granja y animales salvajes (zorros) pueden servir de vehículo contribuyendo a la ruta de contaminación del medio ambiente. Los pollos no son un reservorio usual de VTEC (56). Una vez los animales se contaminan en el hato se produce la eliminación transitoria de VTEC por vía fecal. Cuando la exposición es prolongada puede resultar en la

colonización del tracto gastrointestinal (57). Algunos animales con VTEC tienen la capacidad de eliminar la bacteria en mayor concentración que otros y son los denominados súper diseminadores (58). Se cree que éstos, si bien constituyen una pequeña proporción de ganado, pueden ser responsables de más del 95% de VTEC eliminada por el ganado (58-59).

*Alimentos:* los vehículos más frecuentes de VTEC son la carne molida de vacuno cruda o mal cocida, leche cruda y productos obtenidos de ésta como queso fresco (9). Otros alimentos donde se ha aislado esta bacteria son: yogurt, ensaladas, mayonesa, embutidos fermentados artesanalmente, lechuga, espinaca, brotes de alfalfa, melones y sidra de manzana no pasteurizada (43).

*Ambientales:* varias fuentes de agua, incluyendo agua para consumo contaminada y aguas recreativas, pueden ser vehículo de transmisión de esta bacteria. También se ha establecido que el contacto con animales en granjas o zoológicos puede ser una fuente de infección especialmente para niños (4). Se ha establecido que las moscas pueden ser un vector mecánico en frutas, favoreciendo así la diseminación de VTEC en tejidos deteriorados (44). La transmisión de VTEC a través del suelo, cultivos, agua y sedimentos se presenta como un riesgo de infección para humanos y animales en las granjas (30).

## 2.3 Métodos de diagnóstico ETEC y VTEC

### Detección ETEC

#### Detección en alimentos

Para la detección de ETEC los métodos se basan en la búsqueda de las toxinas LT y ST (19). El procedimiento analítico para estos patógenos en alimentos generalmente requiere el aislamiento e identificación bioquímica de la bacteria antes de realizar la identificación de las toxinas (5), que se pueden realizar por métodos biológicos, inmunológicos y moleculares (9)(Tabla 5).

#### Diagnóstico en ETEC en humanos

La muestra que debe tomarse para el diagnóstico corresponde a heces durante la fase aguda de la enfermedad, las cepas aisladas en esta fase deben ser diferenciadas de las *E. coli* genéricas, mediante pruebas inmunológicas y

ensayos de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) específicos para las toxinas LT y ST; actualmente se dispone de kits comerciales inmunológicos para la detección de las toxinas (60).

## DetECCIÓN DE ETEC EN SALUD PÚBLICA

Debido a la diversidad de serotipos que existen, no hay una técnica internacional estandarizada para la detección de ETEC en casos de brotes de ETA y la capacidad operativa de los laboratorios no permite su correcta identificación (61). En Colombia los laboratorios de la Red de Salud Pública no realizan la detección de serotipos de ETEC.

## DETECCIÓN DE VTEC

### DIAGNÓSTICO EN ALIMENTOS

Los métodos oficiales utilizados para la detección de *E. coli* VTEC por organismos internacionales como la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) y el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés), se basan en las pruebas de ausencia/presencia, donde se hace enriquecimiento, y aislamiento en agar MacConkey-sorbitol, identificación bioquímica y detección de antígenos somáticos y flagelares. La FDA señala que cuando se detecte *E. coli* se deben realizar pruebas específicas para la detección de los genes de virulencia mediante métodos moleculares. Existen diversos métodos analíticos comerciales que incluyen PCR, amplificación isotérmica mediada por asas (LAMP), PCR en tiempo real, Elisa fluorescente y proteínas de fagos, entre otros. En la Tabla 5, se presenta un resumen de diversos métodos utilizados para la detección de VTEC. Para una mayor información de los métodos para la detección de *E. coli* O157 se recomienda consultar el *Manual de Procedimientos: diagnóstico y caracterización de Escherichia coli O157 productor de toxina Shiga a partir de alimentos*, de la OMS-OPS (tabla 5) (3). Recientemente, el USDA ha diseñado un método para determinar siete serotipos de VTEC en carne molida y recortes ya que en ese país son considerados como contaminantes (62).

Adicionalmente, existe la norma la norma ISO 13136:2012. Método horizontal que puede aplicarse a todos los alimentos y se basa en detección por RT-PCR, la cual detecta los serogrupos O157, O111, O26, O103, y O145 (63).

Tabla 5. Métodos de diagnóstico utilizados para detección de ETEC y VTEC

Grupo	Mecanismo del patógeno	Prueba	Clasificación del método
ETEC	Enterotoxinas LT y ST	Asa ligada de conejo LT	Biológico
		Efecto citopático de células CHO; VERO y Y1 para LT	Biológico
		Ratón lactante para ST	Biológico
		Radioinmunoensayo para ST	Inmunológico
		ELISA para LT y ST	Inmunológico
		Hibridación en fase sólida con sondas específicas para LT y ST	Inmunológico
VTEC	Citotoxinas STX1 y STX2	PCR (LT y ST)	Molecular
		Serotipificación	Inmunológico
		Efecto citopático en células CHO; VERO y Y1 para TL	Biológico
		ELISA	Inmunológico
		Agglutinación en látex	Inmunológico
		Imunofluorescencia	Inmunológico
		Extracción de plásmido	Molecular
		Hibridación	Molecular
		PCR ( <i>eae</i> , <i>aaiC</i> , <i>aggR</i> , <i>stx1</i> , <i>stx2</i> , plásmido pO157)	Molecular
		Electroforesis en campos pulsados	Molecular
		Fagotipificación	Molecular

Fuente: (5)

## Diagnóstico de VTEC en humanos

Por ser O157:H7 el serotipo más estudiado dentro del grupo de las VTEC, los métodos de detección se concentran en este grupo. El método de diagnóstico se basa en la inhabilidad de la bacteria para fermentar sorbitol. La muestra que se utiliza para el diagnóstico corresponde a materia fecal sanguinolenta, a partir de las cuales se aísla el microorganismo, utilizando como medio de cultivo agar MacConkey-Sorbitol, las cepas con características sorbitol negativo, MUG negativo son purificadas para su posterior serotipificación (antígeno somático O157 y el flagelar H7). Simultáneamente, deben ser evaluadas para las toxinas Stx, para lo cual se puede recurrir a métodos inmunológicos y moleculares disponibles comercialmente (56, 64).

## Diagnóstico de *E. coli* VTEC en vigilancia en salud pública

Para las investigaciones epidemiológicas y de salud pública así como para el estudio de brotes en humanos por *E. coli* O157:H7, existen varios métodos de laboratorio para el análisis de estas cepas (65). Las técnicas incluyen tipificación de fagos, perfil de plásmidos, Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de

Restricción (RFLP) y Electroforesis en Gel de Campo Pulsado (PFGE). La PFGE es el método empleado por el laboratorio nacional de referencia en salud pública para la tipificación de VTEC, debido a su alto nivel de discriminación, precisión y reproducibilidad. El CDC formó la red de laboratorios de salud pública 'Pulse-net', cuyo propósito es la unificación y estandarización de criterios para el uso de PFGE y así permitir la comparación de las huellas genéticas disponibles. Por otra parte, la Unión Europea creó "Enter-net" para el sistema de vigilancia de VTEC que depende en gran medida del fagotipado (66).

## 2.4 Queso fresco

### Características generales del alimento: el queso

De acuerdo con la Resolución 2310 de 1986 del Ministerio de Salud y Protección Social, el queso *"es el producto obtenido por coagulación de leche, de la crema de leche, de la crema de suero, del suero de la mantequilla o de la mezcla de algunos o todos estos productos, por la acción del cuajo u otros coagulantes aprobados"*. Según las características del procesamiento son; frescos, semimadurados, madurado, madurado por mohos y fundido (67). En el queso, la relación entre la caseína y las proteínas séricas debe ser igual o superior a la de la leche, y para su fabricación puede utilizarse leche de vaca, oveja, cabra o búfala (68).

En los quesos frescos no tiene lugar la maduración después de la coagulación de la caseína, aunque se ha establecido que se puede dar un pequeño proceso de acidez, producto de la actividad metabólica, por lo tanto, todos los quesos frescos tienen un sabor suave y débilmente ácido dado que en éstos todavía no ha tenido lugar la degradación microbiana de las proteínas ni de los lípidos (69). En general, el porcentaje de humedad varía entre 40 y 80%, condición por la cual se conservan durante poco tiempo. Además es necesario pasteurizar la leche para inactivar los posibles microorganismos patógenos presentes, de no hacerse, éstos pueden desarrollarse en el producto elaborado y causar enfermedad en quien lo consume (70-71). El queso fresco, por las características de humedad y contenido de nutrientes puede contaminarse con ETEC y VTEC a lo largo de la cadena de procesamiento, estos microorganismos pueden multiplicarse si la temperatura es superior a 7°C (31).

### Producción mundial

De acuerdo con las proyecciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) para 2014, alrededor del 40% de la leche en todo el mundo se empleará para la elaboración de quesos, donde el 40% de la producción tendría lugar en la Unión Europea y el 25% en América del Norte (72). Los principales países productores de queso son: Francia, Alemania, Italia, Holanda, Estados Unidos, Canadá y México. La producción de América del Sur, Asia y Oceanía, solo representa el 10% del mercado mundial (73). La producción mundial de queso ascendió de 17,2 millones de toneladas métricas en 2009 a 20,4 millones para el 2010 (74).

## Producción en Colombia

Con relación a los volúmenes de producción de la industria láctea, para el año 2011 se presentó un incremento en las ventas del 1,3%, donde los quesos tuvieron un alza superior a la de los otros derivados lácteos. En cuanto al volumen de producción de quesos, no hay datos oficiales sobre la cantidad de leche que se destina para la elaboración de los mismos, no obstante en el país existe una fuerte tendencia a la producción de quesos artesanales en finca y "queseras", las cuales no cuentan con las condiciones sanitarias adecuadas. Se calcula que el volumen de leche destinada para la elaboración de quesos artesanales puede ser del 60%, siendo la Costa Atlántica donde se destina una mayor proporción para la elaboración de queso fresco (queso costeño) (75).

## Balanza Comercial

### Importación

Colombia importa quesos frescos sin madurar de diversos países, considerados tradicionalmente como productores de quesos dentro de los que se incluyen Estados Unidos, Chile, Alemania, Bélgica, Argentina, España, Italia, Francia y Perú (76). En la Tabla 6, se presentan datos de importaciones de queso de 2007 a 2011, observándose una tendencia de aumento en las importaciones entre los años 2008 y 2010, con una caída en el año 2011.

Tabla 6. Volumen de quesos frescos importados

Año	Volumen de queso fresco en kg
2007	42.735,8
2008	40.769,82
2009	84.395,71
2010	147.632,65
2011	78.704,2
2012	483.116,47
2013	663.781,62
2014	580.963,87

Fuente: datos suministrados por el Ministerio de Comercio, Industria y Turismo, 2015 (76).

## Exportaciones

De acuerdo con los datos suministrados por el Ministerio de Comercio, Industria y Turismo, Programa de Transformación Productiva. Colombia exporta quesos frescos incluido requesón, cuya materia prima es el lactosuero. Los países hacia donde se dirigen las exportaciones son: Aruba, Antillas Holandesas, Ecuador, Estados Unidos, España, República Dominicana y Venezuela. En la Tabla 7, se presentan los datos de los volúmenes de exportación de 2007 a 2011, donde puede observarse que en el año 2010 se presentó una reducción en las exportaciones de queso fresco, posiblemente asociado a la disminución de importaciones por parte de Venezuela.

Tabla 7. Exportación de queso fresco colombiano (2007-2012)

Año	Valor en dólares
2007	1.962.421,7
2008	2.471.140,2
2009	2.501.588,5
2010	1.323.148,2
2011	1.359.246,6
2012	776.809,68
2013	829.354,78
2014	1.413.134,66

Fuente: (76).

## Acuerdos Comerciales

De acuerdo a la información disponible en el Ministerio de Comercio, Industria y Turismo, para 2013, el país cuenta con los siguientes acuerdos internacionales vigentes, que consideran la comercialización de leche y leche en polvo como componente empleado en la fabricación de quesos y derivados lácteos, incluidos los quesos frescos:



- Mercosur: el acuerdo contempla la disminución de aranceles en la importación de carne y leche en polvo.
- Tratado de Libre Comercio (TLC) con Estados Unidos: determinó la disminución de aranceles progresivamente en 15 años en leche en polvo, quesos, mantequilla y yogur.
- Tratado desarrollado en conjunto con los cuatro Estados miembros de la AELC (Asociación Europea de Libre Comercio) Suiza, Liechtenstein, Noruega e Islandia, en el caso de Suiza: incluyó un arancel preferencial para leche en polvo y quesos.
- Unión Europea: tiene en cuenta los quesos libres de arancel progresivo a 17 años.
- México: aranceles preferenciales en derivados lácteos.

## Cadena productiva

Se reconocen seis eslabones en la cadena láctea: proveedores de insumos, sistemas productivos, centros de acopio, plantas procesadoras (productoras de queso), comercializadores y consumidores (77-78).

## Cadena primaria

En Colombia se presentan dos sistemas de recolección de leche: especializado y doble propósito, cada uno con características diferentes y ubicados en zonas geográficas distintas (79). De acuerdo con Federación Colombiana de Ganaderos (Fedegan) existen 400.000 ganaderos que se dedican a la producción de leche, la mayoría de ellos pequeños productores (74). La lechería especializada se localiza en las zonas del trópico alto como el altiplano Cundiboyacense, altiplano nariñense, altiplano Norte y Nordeste de Antioquia. Este sistema se caracteriza por presentar la mayor adaptación de las razas *Bos taurus* (*Holstein*, *Jersey*, Normando, Pardo Suizo, *Guernsey* y *Ayrshire*), un uso intensivo de los factores de producción (tierra, capital y mano de obra), uso de fertilizantes, riego, rotación de praderas, utilización de suplementos alimenticios y dos ordeños en el día (80). Por su parte, el sistema doble propósito, se localiza en las zonas del trópico bajo como la Costa Atlántica, valles de los ríos Magdalena, Cauca, Piedemonte Llanero y Caqueteño, y se caracteriza por ser

una ganadería de tipo extensivo debido a la alta disponibilidad de tierras en estas zonas. Su producción de leche se hace con base en las razas cebuínas (*Bos indicus*) o sus cruces con las razas europeas (*Bos taurus*) (75, 81-82).

## Volumen de producción

El volumen total de producción de leche cruda en Colombia entre los años 2010 y 2014 fue de 32.606 millones de litros de acuerdo con lo reportado por Fedegan (Tabla 8) (12), con un volumen promedio por año de 6.500 millones de litros. De acuerdo con lo mostrado en la tabla, la producción de leche cruda tuvo un incremento anual promedio de 90 millones de litros. Para el año 2010 el volumen fue inferior, situación asociada a factores climáticos caracterizados por pocas precipitaciones y baja disponibilidad de forrajes atribuidas al fenómeno conocido como "El Niño", que se presentó en los meses de enero y febrero. Sin embargo se observó que tiende a estabilizarse debido a que los ganaderos han adoptado medidas de contingencia (83). Del volumen reportado en el 2013, de acuerdo con la Encuesta Nacional Agropecuaria, se acopiaron 13.119.456 litros/día. Del total de la leche producida en finca, el 81,6% fue destinada para la venta; de este porcentaje el 62,8% fue vendido a la industria y el 32,6% a intermediarios (84).

Tabla 8. Producción de leche en Colombia

Año	Producción (millones de litros)
2010	6.363
2011	6.390
2012	6.518
2013	6.618
2014	6.717
Total	32.606

Fuente: (74)

## Características de los quesos frescos colombianos

En Colombia se procesan quesos frescos en casi todos los departamentos del país siendo los más ampliamente distribuidos la cuajada y el queso campesino, a diferencia de quesos como el costeño, antioqueño, huilense y molido nariñense que son elaborados casi de manera exclusiva en las regiones donde fueron originalmente desarrollados (Figura 2). En algunas de las regiones cálidas se elaboran quesos con bajo contenido de agua y alto contenido de sal (como el queso costeño), en clima frío los quesos son más húmedos, con menos sal y algunas veces con menos grasa (como el queso campesino) (85).

La Tabla 9 muestra un resumen de las características principales de los tipos de queso fresco elaborados en Colombia, excepto el queso molido nariñense, producido principalmente en la ciudad de San Juan de Pasto, cuya tecnología es similar a la del queso campesino, con la diferencia que, después del desuerado, la cuajada se amasa, se somete al salado y luego se muele antes del moldeado (86-87). En el anexo A, se presentan los diagramas de flujo para el queso campesino y el queso costeño por ser representativos de los quesos frescos elaborados en Colombia, susceptibles de contaminación por *E. coli* patógenas.



Tabla 9. Características de los principales quesos frescos producidos en Colombia

Denominación	Regiones donde se produce	Características	Actividades de proceso	Composición	Apariencia	Material de empaque	Vida útil
Cuajada	Elaborado en todo el país, principalmente Boyacá, Cundinamarca, Valle y Risaralda.	Queso fresco, no ácido, bajo en sal, con alto contenido de humedad y contenido medio en grasa.	Estandarización de la grasa Tratamiento térmico Ajuste de temperatura Adición de cloruro de Calcio Coagulación Corte después de la coagulación Desuerado inicial Salado y agitación Desuerado final Moldeo Enfriamiento y volteo Empaque	M.G. 17-19% -Humedad 50-60% -Proteína 16-18% -Sal 0,5-1,0% -pH 6,2-6,6	Blanco, cremoso y algo brillante, con ojos y de consistencia blanda pero firme.	Bolsa de polietileno Bandejas de icopor, con recubierta de película flexible de cristaflex	2 días
Queso campesino o blanco	Elaborado en todas las regiones del país.	Queso fresco, no ácido, blando, de sabor ligeramente salado. Rendimiento del 11-13%.	Estandarización de la grasa. Tratamiento térmico. Ajuste de temperatura Adición de cloruro de calcio. -Adición del cuajo Corte después de la coagulación Agitación inicial Desuerado inicial Calentamiento y lavado de la cuajada Agitación final Desuerado final Salado. Moldeo Volteos Enfriamiento -Empaque	M.G. 21 – 23% Humedad 54 - 56% Proteína 17-19% -Sal 1,5-1,7% -pH 5,4-5,8	El producto es de color blanco, de apariencia brillante y algo rugosa y textura semiblanda	Bolsa de polietileno	Industrial: 18– 1 días Artesanal: 4-6 días
Queso antioqueño	Antioquia (San Pedro, Entrerrios, Santa Rosa de Osos, Don Matias y Yarumal entre otros) y eje cafetero	Queso fresco, ligeramente salado, no ácido, con alta humedad. Rendimiento del 13-14%	Estandarización de la grasa Tratamiento térmico Ajuste de temperatura Adición de cloruro de calcio Adición del cuajo -Corte después de la coagulación -Desuerado Amasado y salado Molienda Moldeo Enfriamiento Empaque	M.G. 21-23% Humedad 57 – 59 % Proteína 16-18% Sal 1,2-1,8% pH 5,4-5,6	Sin ojos en el interior, textura lisa, apariencia semiblanda, color blanco	Bandejas de icopor, con recubierta de película flexible de cristaflex	2 días
Queso costeño	Córdoba*, Sucre*, Bolívar*, Atlántico*, Magdalena*, Cesar*, Guajira* y regiones cálidas como el departamento del Meta.	Queso fresco, no ácido, semiduro, con alto contenido de materia grasa. La materia prima no se pasteuriza. Rendimiento del 8,5%	Estandarización grasa Ajuste térmico Adición de cloruro de calcio Adición del cuajo Corte Desuerado final Amasado de la cuajada Corte o picado de la cuajada Salado Moldeo Prensado Enfriamiento -Empaque	M.G. 23-25% Humedad 45-47% Proteína 19-20% Sal 3,0-3,5% pH 5,0-5,2	Su apariencia externa es de color crema con poca brillantez; su apariencia interna tiene algunos ojos, textura dura y seca	Costales plásticos	20 días

Denominación	Regiones donde se produce	Características	Actividades de proceso	Composición	Apariencia	Material de empaque	Vida útil
Quesillo huilense o tolimense	Tolima*, Huila*, Valle, Cesar Cauca, Cundinamarca*, Risaralda y Quindío.	Queso fresco ácido de pasta hilada Rendimiento del 8,9 – 9,2%	Fermentación del suero Filtración de leche Ajuste térmico Adición del cuajo Suero ácido Corte de la cuajada Hilado o Fundido y salado Moldeo y enfriamiento Empaque	M.G. 25% Humedad 49-51% Proteína 19-21% Sal 1,1-1,4 % pH 5,2-5,5	A nivel externo presenta una superficie brillante de color blanco cremoso, sin corteza o cáscara	Hoja de plátano Bolsa de polietileno	12 días
Queso doble crema	Cundinamarca y Boyacá (Valles de Ubaté y Chiquinquirá), y otras regiones del país	Queso fresco ácido, de pasta hilada y semiblando Rendimiento del 8,2 -9,2%	Filtrado de leche cruda Estandarización de la acidez y materia grasa Adición del cuajo Corte después de la coagulación Calentamiento y agitación Desuerado Fundido y salado Hilado -Moldeo y enfriamiento Empaque	M.G. 21-24% Humedad 49-51% Proteína 20-22% Sal 1,1-1,4% pH 5,2	Color blanco crema, sin corteza. Consistencia semiblanda, textura cerrada, con apariencia de capas	Bolsa de polietileno	20 días

Fuente: (86, 88-89)

M.G. Materia Grasa

\*En estas regiones se presenta el predominio de este tipo de queso

## 2.5 Presencia del peligro en la cadena alimentaria

### Contaminación por ETEC y VTEC en la extracción de la leche cruda

Las características particulares de la leche hacen que ésta sea susceptible a contaminación microbiana en cualquiera de las etapas de producción como se detalla a continuación (53). La leche cruda puede contaminarse con *E. coli* ETEC y VTEC mediante fuentes ambientales o directamente por infección de la ubre (75). La principal ruta de ingreso a la granja es a través de las heces eliminadas por los animales directamente sobre el suelo o en pastoreo, especialmente bovinos y ovinos, aunque otros animales como palomas, venados o conejos también constituyen reservorios importantes de estas bacterias (90-92).

El microorganismo presente en las heces del animal, puede a su vez contaminar su ubre, pezones, pelo y subsecuentemente, contaminar la leche. Como se mencionó previamente, las heces de los bovinos pueden contener ETEC y VTEC, sin embargo los serotipos de ETEC provenientes del animal no son patógenos para el hombre, por lo que no se constituye en un riesgo para los humanos. Estudios realizados en Estados Unidos han señalado que este microorganismo

puede persistir hasta por 17 meses en las granjas (93). En el ambiente de hatos bovinos VTEC puede persistir por varios años (54).

La cama de los animales, los canales de agua y el estiércol pueden ser también fuentes de VTEC (94). Estos patógenos fecales pueden entrar al ambiente a través de las deposiciones directas a la tierra o a través de la escorrentía superficial de la materia fecal. La presencia de VTEC en las heces de bovinos puede variar, dependiendo de la edad, así, las heces de adultos contienen mayor cantidad de VTEC. Diferentes factores están asociados a la persistencia de este microorganismo en el ganado incluyendo el tipo de alimentación, época de invierno/verano y tipo de ganadería (94).

VTEC tiene una gran capacidad de sobrevivir por largos períodos de tiempo en el suelo y el agua, se ha establecido que puede sobrevivir en el suelo hasta por 99 días (56). Esta gran persistencia en el suelo y en el agua, combinada con intensas prácticas agrícolas, tales como la aplicación regular de efluentes al suelo, así como la alta densidad del ganado en las granjas posibilitan la contaminación de la leche (95). La sobrevivencia y el crecimiento de *E. coli* O157:H7, dependen de la temperatura y la humedad (56). Este microorganismo tolera temperaturas extremas (-20°C a 4 °C) en heces de bovinos (95) y la viabilidad puede ser baja a temperaturas más altas, lo que puede deberse a la reducida humedad asociada con la deshidratación de las heces (95) (Figura 3).



Figura 3. Fuentes de contaminación por ETEC y VTEC en granja  
Fuente: Grupo de redacción.

La zona del ordeño puede convertirse en fuente de contaminación cuando se acumula estiércol contaminado con VTEC (96). Una práctica común en las fincas es el lavado a presión de los establos con agua para remover las heces facilitando la formación de aerosoles, lo cual puede favorecer la contaminación de los equipos, utensilios y zonas de ordeño (97).

La rutina del ordeño incluye las etapas de despunte, limpieza y desinfección de los pezones, ordeño (manual o mecánico) y sellado de los pezones (75). Cuando el ordeño es manual y el manipulador es portador de ETEC, la leche puede contaminarse con el microorganismo. Durante el ordeño la leche puede contaminarse por fallas en el proceso de lavado y desinfección de la ubre, así como el uso de agua contaminada con estas bacterias. La leche representa un excelente medio para el crecimiento de *E. coli* patógenas, especialmente cuando hay un incremento en la temperatura, situación frecuente en Colombia (75). En leche cruda, esta bacteria puede sobrevivir durante la refrigeración (53) (Figura 4).

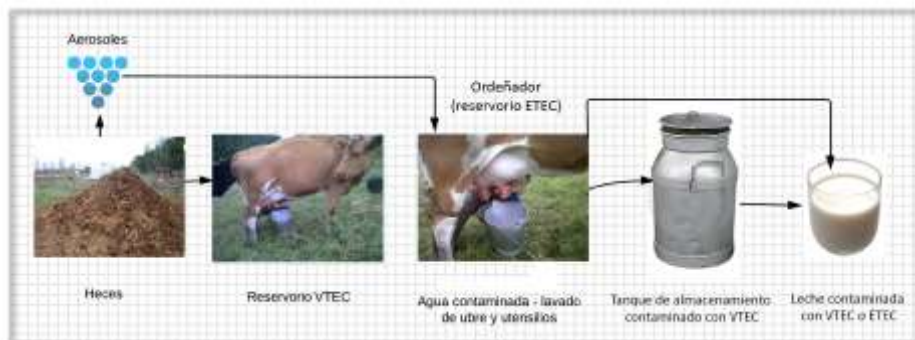


Figura 4 .Contaminación con ETEC y VTEC durante el ordeño  
Fuente: Grupo de redacción.

Se ha reportado la presencia de *E. coli* VTEC en los tanques de almacenamiento de la leche en las fincas, Murinda *et al.* (2002) reportaron la presencia en el 26,7% de las muestras analizadas; además, en dos de los tanques analizados se detectaron restos de heces bovinas (98). La mastitis por *E. coli* VTEC no es frecuente. Stephan and Kuhn reportaron una prevalencia de 2,75% en casos de mastitis asociados a esta bacteria, mientras que autores como Murinda demostraron que de 105 aislamientos de mastitis, solo cuatro fueron positivos para los genes *eaeA* (99), por lo que Oliver postula que este grupo de *E. coli* es una causa poco común de mastitis (100). Durante el transporte de la leche al



centro de acopio, la leche se puede contaminar en los tanques si éstos han tenido contacto con agua que contenga el patógeno (77).

### Fuentes de contaminación durante la elaboración del queso fresco

La leche cruda contaminada con *E. coli* introducida en las plantas de procesamiento lácteo constituye un riesgo para la salud humana si los quesos se elaboran con leche sin pasteurizar, o si ocurre contaminación cruzada (101). A continuación se describen las etapas de producción de queso en Colombia y se relaciona con las posibles fuentes de contaminación (Tabla 10)

- **Recepción de la leche cruda:** en esta fase, la materia prima puede contaminarse con el microorganismo a través de agua contaminada u operarios portadores (102). Es importante señalar que la principal fuente de contaminación con VTEC es la materia prima (leche cruda).
- **Elaboración.** la pasteurización (72°C por 15 s) (63°C por 30 min) a la que se somete la leche para la producción de queso fresco reduce el riesgo de presencia de *E. coli* VTEC y ETEC. En los quesos artesanales donde no se realiza la pasteurización, existen diferentes factores e interacciones complejas entre los microorganismos, que ocurren durante la producción. Durante los procesos de maduración con cultivos iniciadores, los microorganismos presentes en la leche pueden competir con *E. coli* y llevarla a niveles no detectables, a diferencia de los quesos frescos analizados en este perfil, ya que el proceso de maduración no tiene lugar, por tanto no hay competencia que inhiba a *E. coli* (56, 103).  
El ser humano es un factor importante y principal fuente de contaminación con *E. coli* ETEC. Para *E. coli* VTEC, la contaminación cruzada con leche cruda o la deficiencia en los procesos de limpieza y desinfección, se convierten en la principal fuente de contaminación. La concentración de sal de los quesos frescos elaborados en Colombia no elimina las cepas VTEC ni ETEC. En el anexo B se describen las etapas secuenciales para la producción de queso fresco.
- **Almacenamiento temporal del producto elaborado:** en el caso que el microorganismo esté presente en esta etapa, si se interrumpe la cadena de frío puede favorecerse la multiplicación bacteriana. Además, la inexistencia de un esquema de monitoreo y control de la contaminación puede contribuir a la presentación de eventos que afecten la inocuidad del producto, lo que

hace necesario el desarrollo de actividades de verificación de la temperatura de almacenamiento y del programa de limpieza y desinfección (86).

- **Transporte del producto elaborado:** la contaminación en esta fase tiene como origen la inexistente o deficiente aplicación del programa de limpieza y desinfección del área de almacenamiento del producto en los vehículos que lo transportan. También, puede presentarse condensación al interior del vehículo, permitiendo que el microorganismo se transfiera al producto, y eventos de contaminación cruzada a través del uso de canastillas de transporte con higienización deficiente (89). En algunos casos se presenta contaminación cruzada por transporte de productos diferentes que podrían llevar una carga microbiana alta como los cárnicos. Las deficiencias en el monitoreo y control previamente enunciadas como favorecedoras de la presentación de eventos de contaminación en el almacenamiento temporal del producto, también son causales de contaminación durante el transporte (86). Es importante señalar que si el queso está empacado de manera adecuada, no debe contaminarse con las fuentes externas. Si se presentan fallas en la cadena de frío y el queso está contaminado, el microorganismo puede multiplicarse a niveles que pueden ser un riesgo para la salud del consumidor.
- **Comercialización del producto elaborado:** se puede presentar contaminación con ETEC por manejo inapropiado del producto, a través de contaminación cruzada con utensilios de corte, cuando el producto es abierto con el propósito de expendirlo por porción (89). Un factor que puede favorecer la multiplicación durante la comercialización es el aumento en la temperatura de refrigeración si el queso está contaminado previamente. En el caso del queso costeño, la falta de refrigeración se constituye en un factor que, combinado con la utilización de leche sin pasteurizar, aumenta la probabilidad de llegar a dosis que puedan afectar la salud de los consumidores, si el queso llega a contener ETEC o VTEC.

Tabla 10. Fuentes de contaminación de ETEC y VTEC en el procesamiento de quesos frescos

ETAPA	ETEC	VTEC
Recepción	En esta etapa, la materia prima puede estar contaminada; adicionalmente, si los equipos están mal higienizados podrían contaminar el producto	La principal fuente de contaminación en esta etapa la constituye es leche cruda, que puede contaminar superficies y equipos
Elaboración	Se puede presentar una recontaminación por manipuladores portadores en el proceso de moldeado y empaçado (104)	Los humanos no son un portador relevante, por lo que la pasteurización disminuye el riesgo de ocurrencia
Almacenamiento	Si el microorganismo está presente y se rompe la cadena de frío, se puede multiplicar	
Transporte	Si el microorganismo está presente y se rompe la cadena de frío, se puede multiplicar	
Comercialización	El portador se convierte en una posible fuente de contaminación, cuando el queso es expandido al detal	No aplica

Fuente: Grupo de redacción.

## 3 Efectos adversos a la salud asociados con *E. coli*

En este apartado se describirán los efectos adversos en salud por el consumo de alimentos y agua contaminados con ETEC y VTEC, desde los componentes descripción de la enfermedad, grupos de riesgo, información epidemiológica en el contexto internacional, nacional, dosis respuesta y evaluaciones de riesgo, casos y controles, transmisión secundaria, carga de la enfermedad y reglamentación nacional e internacional.

### 3.1 Descripción de la enfermedad

#### *E. coli* enterotoxigénica (ETEC)

**Nombre de la enfermedad:** diarrea del viajero y/o gastroenteritis. Afecta principalmente a niños en países en desarrollo o viajeros a estas regiones (4).

**Período de incubación:** se considera que en promedio el período de incubación es de 26 horas, pero el rango puede abarcar de 8-44 horas (60).

**Síntomas:** los síntomas que se presentan son diarrea acuosa explosiva, dolor abdominal, sin fiebre, sin moco y sin pus. En algunas ocasiones puede presentarse diarrea con sangre después de 1 a 4 días; generalmente es autolimitada, en general los síntomas duran una semana y rara vez causa complicaciones (17, 39).

**Factores de virulencia:** ETEC produce una o dos enterotoxinas, la enterotoxina lábil al calor (LT) y la enterotoxina estable al calor (ST) que han sido bien caracterizadas, clonadas y secuenciadas y ha sido identificado su control genético en plásmidos transmisibles (17). Se reconocen como factores de virulencia la presencia de las toxinas termolábiles LT-I y LT -II de 86 KDa cuya secuencia, antigenicidad y función son similares (5, 105). Existen también dos toxinas termoestables: STa con un peso molecular de 4 KDa (30, 106); y la

toxina STb (29) que puede resistir ebullición por 30 minutos (107). Adicionalmente, presenta los factores de colonización: CFA/I, CFA/II, CFA/III. ETEC también produce uno o más factores de colonización definidos como pili/fimbriales o no fimbriales codificados en plásmidos (30). Esta bacteria causa enfermedad al invadir las células del epitelio intestinal. En el anexo C se describen los mecanismos de virulencia.

**Morbilidad:** la incidencia es desconocida ya que pocos laboratorios pueden identificar este microorganismo, teniendo en cuenta los costos y complejidad de la técnica (108).

**Mortalidad:** la OMS le atribuye 380.000 muertes en todo el mundo anualmente, donde la mayoría son niños (109).

**Dosis mínima infectante:** la gastroenteritis causada por ETEC se produce luego del consumo de  $10^9$  a  $10^{10}$  células viables por gramo que deben colonizar el intestino delgado y producir la(s) enterotoxina(s) (8). Otros autores reportan que aún está en estudio el número de células causantes de esta gastroenteritis y no ha sido posible determinarla con exactitud (39). La dosis mínima infectante puede variar en función del estado nutricional de la persona.

**Tratamiento:** por ser una enfermedad autolimitada, los pacientes se recuperan en pocos días sin un tratamiento específico. Sin embargo, en caso de deshidratación es necesario utilizar sales de rehidratación oral o líquidos endovenosos dependiendo de la severidad. El tratamiento con antibióticos usualmente no es necesario y debe ser considerado según cada caso específicamente (60).

### ***E. coli* verotoxigénicas VTEC**

Este grupo de bacterias causan un amplio espectro de enfermedades que puede abarcar desde gastroenteritis moderada o severa a colitis hemorrágica (CH) y posteriormente presentar complicaciones sistémicas como Síndrome Hemolítico Urémico (SUH) y Púrpura Trombocitopénica Trombótica (PTT) (6, 39, 64)

**Nombre de la enfermedad:** Disentería (110).

**Período de incubación:** los períodos de incubación son variables de acuerdo al tipo de cepa causante de la enfermedad; la colitis hemorrágica causada por VTEC usualmente tiene un período de incubación de 3 a 4 días que puede prolongarse entre cinco y nueve días o ser más corto entre 1 y 2 días (6, 64).

**Síntomas:** la diarrea producida por VTEC inicialmente es acuosa y puede ir o no acompañada de vómito (30-60% de los casos), dolor abdominal y fiebre; después de 1 o 2 días la diarrea se torna sanguinolenta y se aumenta el dolor abdominal presentando calambres abdominales intensos y náuseas (16). Tiene una duración de 4 a 10 días, con heces francamente sanguinolentas (6). El uso de antibióticos ha sido cuestionado y usualmente contraindicado ya que se considera que el tratamiento incrementa el riesgo de presentar SUH (107). Sin embargo estudios más recientes han demostrado que el manejo con antibióticos no cambió el curso o el desenlace de la enfermedad en pacientes con disentería (111).

**Complicaciones:** se estima que 10 al 15 % de los casos de colitis hemorrágica evoluciona en SUH (112) debido a que la verotoxina producida por la bacteria causa daño en las células endoteliales renales.

**Síndrome Hemolítico Urémico:** se caracteriza por la tríada: anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda (16), que frecuentemente se da tras un período prodrómico de diarrea con sangre en los 5 a 7 días previos, conformando el cuadro clínico clásico. En general, los pacientes presentan alteración de la función renal con oliguria o anuria, hipercalemia, acidosis, altas concentraciones de azoados en suero y creatinina en orina. Se pueden presentar complicaciones como sobrecarga hídrica, falla cardíaca, hipertensión, necrosis pancreática focal, pericarditis, disfunción miocárdica, colitis necrotizante, rabdomiolisis, hepatoesplenomegalia, convulsiones, infarto cerebral y coma. Las complicaciones extrarenales pueden ocasionar la muerte (39). Aunque con menor frecuencia, puede presentarse sintomatología neurológica y respiratoria, y prolapso rectal (6).

**Tratamiento:** El tratamiento es terapia de soporte, prestando especial atención al balance de líquidos y electrolitos; el inicio temprano de diálisis ha demostrado

reducir la mortalidad; también se debe hacer control de la hipertensión, transfusión de glóbulos rojos y plaquetas, y soporte nutricional.

**Púrpura Trombocitopénica Trombótica (PTT):** esta es una complicación de la colitis hemorrágica. El cuadro clínico está dado por la péntada fiebre, anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, alteración de la función renal, y alteración del Sistema Nervioso Central. Los pacientes pueden además presentar púrpura cutánea, hemorragias retinianas, gingivales, digestivas, metrorragias, epistaxis, convulsiones y hemorragia cerebral (113). En general, en la PTT el recuento de plaquetas se encuentra disminuido con cifras inferiores a 30.000 plaquetas/dl. El tratamiento de la PTT es plasmaféresis.

**Efectos a largo plazo:** SUH, alteraciones renales que requieren diálisis o trasplante, hipertensión y déficit neurológico (64).

**Factores de virulencia:** el principal factor de virulencia es la producción de la toxina Shiga, aunque no se ha esclarecido totalmente el mecanismo de patogenicidad de VTEC. Además de las Shiga toxinas (STX), otros factores de virulencia incluyen un plásmido pO157 que codifica para una enterohemolisina (17) y un factor de adherencia intestinal que juega un papel importante en la adherencia del microorganismo a las células epiteliales y está asociado a la esfacelación (daño necrótico) (17, 114). La intimina juega un papel importante en la adherencia del microorganismo, al igual que otros factores que aún están en estudio (6). En el anexo C se describen más en detalle los factores de virulencia de este microorganismo.

**Morbilidad:** el CDC ha estimado que VTEC produce unas 73.000 infecciones o más en EEUU anualmente. El SUH es la causa más común de falla renal aguda en niños (53). Aproximadamente el 10% de los pacientes con SUH tienen secuelas (53).

**Mortalidad:** la colitis hemorrágica con tratamiento adecuado puede ser curada o en caso contrario, llega a SUH, que causa una mortalidad del 3-5% (17). El 75% de los pacientes con PTT mueren luego de 90 días de contraída la enfermedad (115).

**Dosis infectiva:** se han reportado dosis infectivas de menos de 10 UFC/ml de *E. coli*/VTEC (64) y de 1 a 100 células viables (116).

**Serotipos causantes de la enfermedad:** cerca de 200 serotipos de VTEC han sido aislados de humanos y se han reconocido como patógenos. La OMS ha identificado como los serovares más importantes de VTEC no-O157 por su impacto epidemiológico a O26, O103, O111 y O145. En la página web (Rivas, 2013)\_se presenta una tabla con todos los serotipos aislados en humanos.

## 3.2 Grupo riesgo

### Grupo de riesgo para ETEC

El principal grupo de riesgo corresponde a niños menores de 2 años con mayor prevalencia en los primeros seis meses de vida. La frecuencia de aislamiento de este patógeno en niños con diarrea es del 10 al 30%, en los países en vía de desarrollo (4, 17).

### Grupo de riesgo para VTEC

Todos los grupos de edad pueden presentar enfermedad diarreica pero se presenta con mayor frecuencia en los pacientes pediátricos: lactantes y hasta los 15 años, encontrándose la incidencia máxima en el grupo de niños menores de 5 años. Otra población susceptible son los adultos mayores (117-118).

## 3.3 Información epidemiológica en el contexto internacional

### Prevalencia ETEC y VTEC

En la Tabla 11 se presenta la información disponible sobre la prevalencia de ETEC y VTEC en quesos frescos. Como puede observarse se encuentran prevalencias nulas en diversos estudios, así como prevalencias altas en otros. Es importante señalar que estos datos pueden diferir ya que los estudios relacionan diferentes variables: tipo de queso y procedencia de la leche. La información disponible para ETEC es limitada, lo que se puede relacionar con que esta bacteria no presenta una relevancia alta en los países que reportan los estudios.



Tabla 11. Prevalencia de *E. coli* en quesos a nivel internacional

PAÍS	AÑO	TIPO DE QUESO	PREVALENCIA	DATOS DE INTERÉS	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA
Bélgica	1999	Queso fresco blando	0% (0/153)	<i>E. coli</i> O157:H7	(119)
España	2007	Queso leche cruda de oveja	3.6% (3/83)	<i>E. coli</i> STEC O157:H7 y O14	(120)
Turquía	2010	Queso tipo Kasar	0% (0/264)	<i>E. coli</i> O157:H7	(121)
Perú	2007	Queso fresco	7.8% (8/102)	<i>E. coli</i> O157:H7	(122)
Estados Unidos	1997	Queso fresco	0% (0/19)	<i>E. coli</i> O157:H7	(123)
Brasil	2000	Queso blanco suave	0% (0/44)	ETEC	(124)
Brasil	2000	Queso blanco suave	0% (0/44)	EHEC O157:H7	(124)
Escocia	2001	Queso leche cruda	0% (0/739)	VTEC	(125)
Turquía	2001	Queso blanco en escabeche	4% (2/50)	EHEC O157:H7	(20)
Estados Unidos	2012	Queso leche cruda	0% (0/41)	EHEC O157:H7	(8)
Italia	2004	Queso mozzarella de búfala	0% (0/50)	VTEC O157:H7	(126)
Francia	2005	Queso fresco granja	8.3% (11/132)	STEC	(127)
Francia	2005	Queso fresco industrial	10.4% (10/96)	STEC	(127)
Francia	2005	Queso fresco blanco de granja	11.5% (46/399)	STEC	(127)
Francia	2005	Queso duro industrial	23.9% (21/88)	STEC	(127)
Francia	2005	Queso duro granja	17.9% (33/184)	STEC	(127)
España	1997	Queso fresco	16,7% (37/221)	ETEC	(128)

## Brotos por *E. coli* ETEC y VTEC en el contexto internacional

En la Tabla 12 se presentan los diversos brotes reportados internacionalmente asociados a ETEC y VTEC. En la mayoría de los casos, los quesos fueron elaborados con leche cruda contaminada con VTEC, sólo en un brote se reporta que el factor de riesgo fue una falla en el proceso de pasteurización. Para el caso de VTEC, el grupo de riesgo corresponde a los niños menores de 15 años, adicionalmente se tiene en cuenta el desarrollo de SUH, que genera una alta tasa de hospitalización. Con relación a los países de América Latina, sólo Argentina reporta un brote, el cual se asoció a errores en prácticas higiénicas; en este país el SUH es de notificación obligatoria no así VTEC. Actualmente se está evaluando la modificación del Código Alimentario Argentino para incluir los serogrupos O26, O145, O111, O121 y O103 a cuatro categorías de alimentos: carne picada fresca, alimentos listos para el consumo, vegetales y chacinados frescos (129). Nuevamente, los reportes de brotes se encuentran documentados en los países con sistemas efectivos de vigilancia en salud pública. Por último, vale la pena resaltar que parte de los brotes reportados en

Estados Unidos son de carácter multi-estado (brotes con distribución geográfica en diferentes estados).

Para ETEC, el último brote reportado es de hace 30 años, lo que podría indicar que el queso no es un alimento asociado a infecciones por este patógeno. Como se ha mencionado previamente la principal fuente de ETEC son los humanos; en el caso de quesos elaborados industrialmente, debido a la capacitación e implementación de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), se ha disminuido su presencia, por factores que no pueden ser controlados en la elaboración de quesos artesanales.

Tabla 12. Brotes asociados al consumo de quesos contaminados con ETEC y VTEC.

PAÍS	ALIMENTOS	AÑO	FACTORES DE RIESGO	NÚMERO DE CASOS	GRUPO ETARIO	SEROTIPOS ASOCIADOS	HOSPITALIZADOS	SUH
Francia	Queso de leche de vaca y cabra	1996	Fabricación con materia prima cruda	4 infectados	Niños	<i>E. coli</i> (Vt2 O157:H7)	4 personas (100%)	4 con SUH
Estados Unidos (ciudades de Wisconsin)	Queso fresco cuajada	1998	Deficiencias en higiene de cavas de pasteurización e inapropiada temperatura de almacenamiento.	55 infectados	Edad media de 27 años	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	25 personas (45.4%)	Sin SUH
Inglaterra (Somerset)	Queso	1998	Fabricación con materia prima cruda	1 infectado	Niño de 12 años	<i>E. coli</i> (Vt2 O157:H7 Patotipo 2)	1 persona (100%)	1 con SUH
Reino Unido	Queso	1999	Fabricación con materia prima cruda	4 infectados	No reportado	<i>E. coli</i> O157 pt21/28	No reportado	No reportado
Canadá (Provincia de Alberta)	Queso Gouda de leche cruda	2002	Materia prima cruda	13 infectados	Edad media de 34.5 años. 22 meses a 73 años.	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	5 personas (38%)	2 con SUH
Argentina (Mar del Plata)	Polenta con queso, fideos con queso	2003	Prácticas inapropiadas del jardín maternal y hábitos de higiene	14 infectados	23,6 ± 13,9 meses	<i>E. coli</i> (VTEC O103:H2; VTEC O26:H11)	No reportado	1 con SUH
Canadá	Queso	2003	Fabricación con materia prima cruda	10 infectados	Niños	<i>E. coli</i> O157	1 persona (10%)	1 con SUH
Francia	Queso de cabra	2004	Fabricación con materia prima cruda	2 infectado	No reportado	<i>E. coli</i> O157	2 personas (100%)	1 con SUH
Estados Unidos (Oregón y Washington)	Leche cruda	2005	Consumo de leche cruda contaminada (programa de ganado compartido)	18 infectados	1-47 años con promedio de 9 años	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	5 personas (28%)	4 con SUH
Francia	Queso fresco de leche cruda de cabra	2006	Materia prima cruda contaminada	2 infectados	< de 3 años	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	2 personas (100%)	2 con SUH
Estados Unidos (5 estados)	Lechuga, queso y carne picada	2006	Materias primas contaminadas, distribuidas en cadena de restaurantes	71 infectados	No reportado	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	53 personas (75%)	8 con SUH
Estados Unidos (California)	Leche cruda	2006	Consumo de leche cruda contaminada	6 infectados	Niños entre 6 y 18 años	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	3 personas	2 con SUH
Dinamarca	Productos de la industria láctea	2006	No reportado	6 infectados	18 niños y 7 adultos	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)		Sin SUH
Canadá (Provincia de Quebec)	Queso de leche cruda	2008	Materia prima cruda contaminada	16 infectados	Edad media de 38 años, con rango de 7 a 76 años	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	8 personas (50%)	1 con SUH
Estados Unidos (5 estados)	Queso	2010	Contaminación en proceso (identificación de microorganismo en paquetes sellados)	38 infectados	1-85 años con promedio de 16 años	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	15 personas (50%)	1 con SUH
Estados	Leche cruda	2012	Consumo de	4	Niños	<i>E. coli</i> (VTEC)	3 personas (75%)	2 con

PAÍS	ALIMENTOS	AÑO	FACTORES DE RIESGO	NÚMERO DE CASOS	GRUPO ETARIO	SEROTIPOS ASOCIADOS	HOSPITALIZADOS	SUH
Unidos (Oregon)			leche cruda contaminada	infectados	menores de 15 años	O157:H7)		SUH
Estados Unidos (19 estados)	Pizzas congeladas (algunas contenían queso) y quesadillas	2013	Congelamiento de productos	35 infectados	1-75 con promedio de 17 años. 82% con 21 años o menos.	<i>E. coli</i> (VTEC O121)	9 personas (31%)	2 con SUH
Estados Unidos (Wisconsin)	Leche cruda	2013	Consumo de leche cruda contaminada	3 infectados	Niños de 3 años y su madre	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	No reportado	Sin SUH
Estados Unidos (Connecticut)	Leche sin pasteurizar	2008	Consumo de leche contaminada	14 infectados	No reportado	<i>E. coli</i> (VTEC O157:H7)	No reportado	3 con SUH
Reino Unido (New Deer)	Transmisión oro-fecal	2001	Suelo contaminado por heces de oveja	20 infectados	Personas entre 8 y 20 años	<i>E. coli</i> O157	No reportado	No reportado
Estados Unidos (49 Estados)	Agua, diferentes alimentos, transmisión oro-fecal	1982-2002	Consumo de agua y alimentos contaminados, contacto con animales infectados.	8598 infectados	No reportado	<i>E. coli</i> O157	1493	354

Fuente: (61)  
**Incidencia de casos**

En la Tabla 13 se presentan los casos de VTEC por cada 100.000 habitantes en diferentes países, no se encontró información disponible sobre ETEC.

Tabla 13. Incidencia por 100.000 habitantes en diferentes países.

AÑO	PAÍS	INCIDENCIA/100.000 hab	REFERENCIA
2001	Alemania	0.7 en niños menores de 15 años	(130)
2004	Argentina	12,2 en niños menores de 5 años	(104)
2007	Australia	23	(131)
2001	Austria	0.4 en niños menores de 15 años	(130)
2000-2002	Canadá (región de Calgary)	5,5	(132)
1996	Escocia	8	(133)
2005	Nueva Zelanda	2,5	(53)
2011	Estados Unidos	1,68	(134)

Como puede observarse, Australia presenta el mayor número de casos por 100.000 habitantes, y Austria, el menor número. Es importante anotar que en América Latina, sólo Argentina tiene identificado el número de casos asociados a SUH, es posible que la ausencia de datos sobre ETEC esté explicada con un bajo número de casos en los países que cuentan con sistemas de vigilancia robustos. Adicionalmente, se puede relacionar con la baja notificación de esta patología, la cual puede confundirse con salmonelosis o campylobacteriosis.

Cabe resaltar que no todos los países tienen disponibles datos recientes, lo que puede generar un subregistro.

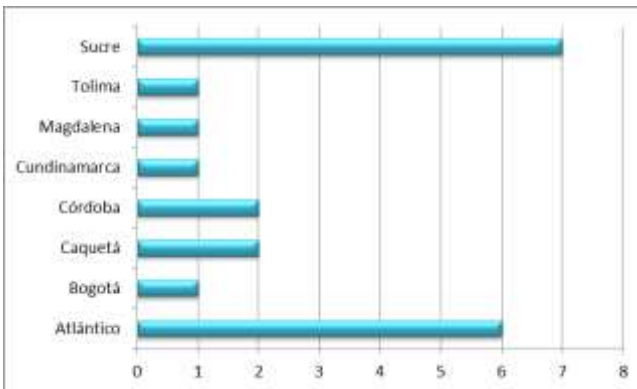
### 3.4 Información epidemiológica en el contexto nacional

#### Prevalencia de ETEC y VTEC en quesos

No se encontró información disponible sobre la prevalencia de ETEC ni VTEC en quesos frescos en Colombia. La información reportada en Colombia para *E. coli* hace referencia a *E. coli* genérica (usada como indicador higiénico) y no se relacionada con cepas patógenas (135).

#### Brotos en Colombia

De acuerdo con la información suministrada por el Sivigila para los años 2011-2014 se presentaron 21 brotes relacionados al consumo de queso contaminado con *E. coli*; es importante anotar que las cepas de *E. coli* aisladas no fueron serotipificadas, por lo que no pueden asociarse a ningún grupo de cepas patógenas. El número de casos reportados en los ocho brotes fue de 48 personas (136). Los departamentos que reportaron el mayor número de brotes fueron Sucre y Atlántico, donde hay un alto consumo de queso costeño elaborado de manera artesanal (Figura 5).



Fuente: (134)

Figura 5. Brotes asociados a consumo de queso con aislamiento de *E. coli* en 2011-2014.

### 3.5 Dosis-respuesta

Existen estudios de dosis respuesta realizados con *E. coli* O157, sin embargo no incluye las otras *E. coli* del grupo VTEC, por lo cual no pueden extrapolarse, debido a las diferencias de virulencia. En el caso de modelos en humanos, donde se empleó a *Shigella* spp. como sustituto de *E. coli* O157:H7, los datos obtenidos no son comparables debido a la virulencia propia de *E. coli* (137), por lo que la tendencia actual es emplear los datos obtenidos en brotes de *E. coli* O157:H7. Un ejemplo de la aplicación de modelos dosis-respuesta donde se utilizaron los datos provenientes de un brote ocurrido en Japón asociado al consumo de un refrigerio escolar, estableció la dosis para niños y adultos como 1,001 mo y 1,44 mo, respectivamente. En este caso hay incertidumbre en los datos ya que la cepa de este brote resultó inusualmente más virulenta que otras cepas de *E. coli* O157:H7 (138), el modelo empleado fue de tipo binomial y se aplicó la simulación de Monte Carlo. En la Tabla 14 se presenta el resumen de algunos modelos de dosis respuesta desarrollados para *E. coli* O157:H7.

Tabla 14. Modelos de dosis respuesta aplicados a *E. coli* O157

MODELO	RESUMEN	REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA
<i>Beta-Poisson</i>	Este estudio usó un modelo previo aplicado para animales y la información obtenida en dos brotes asociados al consumo de agua; se estableció que la ingesta de un bajo número de <i>E. coli</i> O157:H7 era capaz de causar la enfermedad	(139)
Modelos exponenciales y <i>Beta-Poisson</i>	Este estudio empleó datos de brotes de diferentes países. El modelo estableció que una dosis de $10^3$ mo/g era suficiente para causar la enfermedad	(137)
Modelo <i>Beta-Poisson</i>	Este estudio señala que hay incertidumbre sobre los datos, sin embargo estima que en el caso de un brote, el 50% de los expuestos podría sufrir la enfermedad si consume $3,5 \times 10^3$ mo; es importante señalar que este modelo aplica a carne de res	(140)

Es importante resaltar que hasta la fecha no se han reportado modelos de dosis respuesta con los serotipos de ETEC de interés en salud pública, por lo que no puede estimarse el número de microorganismos que pueden causar la enfermedad, la razón fundamental para que no se hayan desarrollado modelos matemáticos es la carencia de datos.

### 3.6 Evaluación de riesgos

En la literatura internacional no se encontraron documentos de evaluación de riesgos asociados al par queso fresco/ETEC o VTEC. Las evaluaciones de riesgos se han enfocado principalmente a VTEC/carne picada (molida), (140). No se encontró ningún documento de evaluación de riesgos relacionado con ETEC.

### 3.7 Casos y controles

Estados Unidos realizó un estudio de casos y controles asociado específicamente a *E. coli* O157:H7, para estimar los factores de riesgo. Este estudio encontró como principal factor de riesgo para sufrir colitis hemorrágica el consumo de carne mal cocida. Se encontró que niños menores de trece años que recibieron trimetropin sulfametaxona tres días después de adquirir la colitis desarrollaron el síndrome urémico hemolítico (141). Otro estudio realizado en Bélgica, confirma que el principal riesgo de adquirir este microorganismo es el consumo de carne de hamburguesa mal cocida y comer en restaurantes de comida rápida (142).

Canadá en el año 2012, realizó un estudio de casos y controles donde se encontró una asociación entre la colitis hemorrágica y el consumo de queso fresco elaborado con leche sin pasteurizar (OR: sin definir) (P=0.008) (143). Un estudio realizado por Kennedy y colaboradores, estableció que las personas que viven en granjas ganaderas tienen un riesgo mayor de adquirir la infección por *E. coli* VTEC (144).

### 3.8 Transmisión secundaria

Se ha demostrado la transmisión secundaria persona a persona para el caso de VTEC, uno de los estudios estimó una tasa de ataque del 22% (145).

### 3.9 Carga de la enfermedad

En Estados Unidos se estimó para el año 2003 que el costo anual por VTEC fue de 405 millones de dólares, incluyendo 370 millones por muertes prematuras, 30 millones por gastos médicos y 5 millones por pérdida en la productividad. El costo de la enfermedad por caso varía dependiendo de la severidad, para el caso de colitis hemorrágica es de 26 dólares y para pacientes que han muerto

por el SUH es de 6,2 millones de dólares (146). En Canadá también se evaluaron los costos coincidiendo con el estudio anterior en cuanto a que el costo varía en función de la severidad de la enfermedad, en este caso el promedio de costo por las consultas médicas fue de U\$59,92 , el de las urgencias fue de U\$112,32 y de un día de hospitalización U\$1.171,24 . Para el caso de pacientes con SUH este costo es más elevado debido a los tiempos de estancia más prolongados y a la necesidad de utilizar otros recursos terapéuticos de alto costo como la diálisis, así como la hospitalización en unidad de cuidados intensivos, lo que significa un valor de U\$17.500 por día de hospitalización (147). En el contexto latinoamericano, Argentina realizó un estudio sobre los costos directos e indirectos del tratamiento de SUH, estableciendo que el costo por paciente fue de 75.409 pesos argentinos (U\$14.035) (104). En Colombia, con la información disponible no fue posible establecer el costo asociado a esta enfermedad.

### 3.10 Reglamentación internacional y nacional

En el ámbito internacional, se encuentra que la legislación que rige para quesos está enfocada a la identificación de *E. coli* como microorganismo indicador de higiene. En Colombia, actualmente no está reglamentada la búsqueda de *E. coli* ETEC y VTEC en quesos.





## 4 Evaluación de la exposición

### 4.1 Datos de consumo

#### Consumo de queso fresco en el ámbito internacional.

En relación con el consumo de queso en el mundo, en el período comprendido entre 2005 y 2009, se alcanzó un consumo mundial promedio anual de 19.3 millones de toneladas generando unos inventarios acumulados de 567 mil toneladas. Las cifras de la FAO determinan que los principales consumidores son Estados Unidos, Alemania y Francia, y que juntos concentran prácticamente el 45% del consumo mundial total. Se estima que el consumo aparente per cápita de quesos, en el mundo, habría promediado en 2001 los 2,75 kg/hab./año (82).

#### Consumo de queso fresco en Colombia

En cuanto al consumo de queso, en 2011 el país reportó 1,1 kg/persona/año estando muy por debajo del valor de países de gran consumo (Fedegan), los cuales reportan cifras superiores a los 37 kg/persona/año (82), y del promedio de América Latina el cual es de 3,5 kg/persona/año (148). Según los datos reportados por la Encuesta Nacional de Situación Nutricional (ENSIN 2005) (149), en la lista de los alimentos de mayor consumo en Colombia el queso ocupa el décimo noveno lugar con un promedio de 42,5 gramos/individuo/día. Un 26,6% de las personas no consumió ningún producto lácteo el día anterior. El grupo de edad que reportó mayor consumo de productos lácteos fue el de 2 a 3 años (86,3%), y el menor el de 51 a 64 (70,0%) (Tabla 15) (149). De acuerdo con la encuesta ENSIN del 2005 (149), el 19,7% de los colombianos consumen diariamente 42,5 g, lo que equivaldría a 15,5 Kg/año. Datos de la industria láctea señalan que para el año 2003, el 78% del queso que se consumió en el país fue queso fresco, lo que equivale a un consumo anual de 12 Kg por consumidor. En la Tabla 15 se presentan los datos de consumo por grupo etario, reportados en el país.

Tabla 15. Consumo de queso por grupo etario en Colombia

EDAD (años)	PORCENTAJE QUE CONSUME	PROMEDIO CONSUMO DÍA (g)	PROMEDIO CONSUMO ANUAL (Kg) x365	PROMEDIO CONSUMO ANUAL QUESO FRESCO <sup>1</sup>
2-3	16	32,3	11.7	10.53
4-8	20	35,8	13.0	14.44
9-13	20,9	41,8	15.2	13.68
14-18	21,5	46,6	17.0	15.3
19—50	19,6	44,5	16.2	14.58
61—64	17,9	40	14.6	16.22

Fuente: (149).

<sup>1</sup>Estimando que el consumo de queso fresco es del 90%.

## 4.2 Carga en el alimento

No se encontró información publicada sobre concentraciones de ETEC y VTEC en quesos frescos.

### Cálculos de la exposición para ETEC

Para el cálculo de la exposición se empleó la matriz de *Risk Ranger*, diseñada por Ross (150). Es importante señalar que muchos de los datos se basan en supuestos realizados por el grupo de trabajo, por lo que estos valores deben analizarse con precaución. La estimación se hizo asumiendo dos escenarios, leche cruda y leche pasteurizada. A continuación se presentan los supuestos empleados para la matriz de *Risk Ranger*.

1. Frecuencia del consumo de queso fresco: se asumió que el 20% de la población consume diariamente queso fresco, basado en datos de ENSIN, 2005.
2. Tamaño de población: se tomó como base el reporte de estadísticas de proyección del DANE, para el año 2013, donde se consideró la población hasta los cinco años.
3. Probabilidad de contaminación: se estableció con los datos obtenidos en la literatura internacional sobre prevalencia de ETEC en quesos frescos, empleando el promedio de los datos.
4. Probabilidad de recontaminación: se asumió que aproximadamente el 25% de los quesos podrían contaminarse, basados en las categorías incluidas en el *Risk Ranger* y asumiendo que parte del queso fresco en el país, se comercializa sin empaque.

5. Control pos proceso. Se asumió que el control era regular para leche cruda y adecuada para leche pasteurizada.
6. Incremento de dosis infectiva: en este caso se asumió que no se incrementaba durante la comercialización.

Tabla 16. Criterios empleados para la estimación del Ranking de Riesgo para ETEC y queso fresco

CRITERIOS DE RIESGO PARA ETEC	QUESO FRESCO ELABORADO CON LECHE CRUDA	QUESO FRESCO ELABORADO CON LECHE PASTEURIZADA
Dosis y severidad		
Severidad del peligro (severo, medio y bajo)	Bajo	Bajo
Susceptibilidad	Población en general-niños menores de cinco años	Población en general-niños menores de cinco años
Frecuencia de consumo	Diario	Diario
Proporción de consumo	20%	20%
Tamaño de la población	3.760.000	3.760.000
Probabilidad de contaminación	Probabilidad de contaminación	0.000001%
Efecto de procesamiento	1,4%	Elimina
Possibilidad de recontaminación	Ninguno	Baja
Control post-proceso	Media	Bien
Incremento de dosis infectiva	Regular	Ninguna
Cocción adicional antes de consumo	Ninguna	Ninguna
Número total de enfermos por año	Ninguna	0
Ranking de riesgo	1,74/1000.000	0
	62	0

Fuente: Grupo de redacción.

De lo anterior, se concluye para el caso de ETEC, que cuando el queso es elaborado con leche cruda existe un riesgo importante (Ranking de riesgo 62), mientras que cuando el queso se hace con leche pasteurizada el riesgo de adquirir la enfermedad es nulo si se cumplen todas las premisas planteadas anteriormente.

### Cálculo de la exposición para VTEC

Para el cálculo de la exposición se utilizó la matriz de *Risk Ranger* anteriormente mencionada. Así mismo, hay que tener en cuenta las consideraciones mencionadas para el cálculo de la exposición para ETEC. A continuación se describen los supuestos.

1. Frecuencia del consumo de queso fresco: se asumió que el 20% de la población consume diariamente queso fresco, basado en la información del ENSIN, 2005.
2. Tamaño de población: se tomó como base el reporte de estadísticas de proyección del DANE, para el año 2013, donde se consideró la población hasta los 15 años.

3. Probabilidad de contaminación: se estableció con los datos obtenidos en la literatura internacional sobre prevalencia de VTEC en quesos frescos, se realizó promedio de los datos.
4. Probabilidad de recontaminación: se asumió que aproximadamente el 25% de los quesos podían contaminarse.
5. Control pos proceso: se asumió que el control era regular en el caso del queso elaborado con leche cruda y era adecuado en el queso elaborado con leche pasteurizada
6. Incremento de dosis infectiva: en este caso se asumió que no se incrementaba durante la comercialización.

Tabla 17. Criterios para la estimación del Ranking de riesgo para VTEC en queso fresco

CRITERIOS DE RIESGO PARA VTEC	QUESO FRESCO ELABORADO CON LECHE CRUDA	QUESO FRESCO ELABORADO CON LECHE PASTEURIZADA
Dosis y severidad		
Severidad del peligro (severo, medio y bajo)	Alta	Alta
Suceptibilidad	Niños de 1 a 15 años	Niños de 1 a 15 años
Frecuencia de consumo	Diaria	Diaria
Proporción de consumo	18.7%	18.7%
Tamaño de la población	5.640.000	5.640.000
Probabilidad de contaminación	6.2%	0.0000001%
Efecto de procesamiento	Ninguno	Elimina
Posibilidad de recontaminación	Baja	Ninguna
Control post-proceso	Regular	Bien
Incremento de dosis infectiva	Ninguna	Ninguna
Cocción adicional antes de consumo	Ninguna	Ninguna
Número total de enfermos por año	1,74/100.000	0
Ranking de riesgo	79	0

Fuente: Grupo de redacción.

Como puede observarse en la Tabla 17, el riesgo de adquirir VTEC por consumo de queso elaborado con leche cruda es mayor (Ranking de riesgo 79); la razón que puede explicar este dato es una mayor población expuesta y una bacteria con mayor severidad. Estudios realizados por Gilbert en 2007 (53) para leche cruda, muestran que al consumir leche sin pasteurizar el Ranking de riesgo es de 77, dato similar al de este estudio; cabe aclarar que Gilbert consideró toda la población y un incremento en la dosis infectiva de 10X, que no se consideró en este escenario.

## 5 Medidas de prevención y control

Después de analizar las fuentes de contaminación que posibilitan la contaminación con ETEC y VTEC de los quesos frescos, se acuerda considerar las siguientes medidas de prevención y control, teniendo en cuenta el enfoque "de la granja a la mesa".

### Cadena primaria

Una estrategia adecuada para disminuir la presencia de estas bacterias en la granja es la implementación de las Buenas Prácticas Ganaderas, haciendo énfasis en las siguientes:

- Realizar el ordeño en áreas estabuladas cubiertas para evitar que la lluvia sirva de vehículo de *E. coli* desde el suelo, desde el cuerpo del animal u otras probables fuentes.
- Establecer medidas de limpieza y desinfección durante la etapa de ordeño, que garanticen el correcto lavado de la ubre, los utensilios y tanques de almacenamiento.
- Una vez obtenida la leche garantizar el mantenimiento de la temperatura de almacenamiento por debajo de 4°C +/- 2°C (151).
- Eliminar periódicamente el estiércol de los establos y áreas de ordeño para evitar que constituyan un foco contaminante de *E. coli* (152).
- Se debe evitar que el ganado vacuno esté cerca de otros animales como cerdos, conejos, cabras, que son vehículo de este microorganismo; de igual manera durante el ordeño estos animales no deben estar presentes.
- El agua de bebida de los animales debe provenir de sitios limpios, en caso de emplear agua reciclada, ésta debe sufrir un tratamiento de purificación para asegurar que esté libre de *E. coli*, y los pozos de agua deben estar cubiertos para evitar la contaminación con heces.
- Por ninguna razón las heces frescas de los animales deben emplearse como abono de pastos y forrajes para alimentación animal, éstas deben ser sometidas a tratamientos que garanticen su eliminación, tales como

compostaje, pasteurización, *humus*, estabilización o un tratamiento equivalente.

- En el caso de *E. coli* ETEC, como se ha mencionado previamente, la principal fuente son los humanos por lo cual la capacitación en buenas prácticas de ordeño e higiene son fundamentales para disminuir su diseminación. Así mismo, las heces humanas deben ser dispuestas en pozo séptico u otra disposición adecuada.
- Por ser *E. coli* VTEC un microorganismo cuya principal fuente es el ganado bovino, se busca reducir el número de animales portadores basados en la implementación de las Buenas Prácticas Ganaderas (53, 100, 152).

### Transporte.

- El transporte de la leche al sitio de procesamiento debe realizarse en carros isotérmicos que garanticen mantener la leche a 4°C +/- 2°C, los tiempos de transporte no deben exceder las 24 horas.
- Se deben implementar programas de saneamiento para vehículos, utensilios y cantinas empleadas durante la recolección y transporte de la leche.

### Transformación

- Todos los quesos frescos deben ser elaborados a partir de leche pasteurizada a 72 °C por 15 segundos o su equivalente, la termización no garantiza la destrucción de este microorganismo. Es importante aclarar que hasta la fecha no hay un método viable económicamente que pueda reemplazar el proceso de pasteurización.
- Implementar BPM y programas de limpieza y desinfección dentro del proceso de transformación, para personal operativo, equipos y utensilios, con especial énfasis en evitar la contaminación cruzada entre la recepción de la materia prima, donde se puede encontrar *E. coli* ETEC y VTEC, y las etapas posteriores al tratamiento térmico.
- El uso de tratamientos complementarios a la pasteurización como el empleo de bacteriocinas (Reuterina) y altas presiones han demostrado ser eficaces para la inactivación de *E. coli* VTEC (2, 153).
- Incluir en los programas de capacitación y sensibilización del personal operativo, aspectos asociados a las patologías por *E. coli* ETEC y VTEC, así como las medidas para controlar su diseminación en la fabricación de quesos frescos.

- Una vez elaborados los quesos, éstos deben almacenarse en condiciones de refrigeración ( $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) y mantener la cadena de frío durante el transporte (154).

### Comercialización

- Garantizar el control y verificación de la temperatura durante el transporte del queso, que debe mantenerse a  $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  (67).
- Evitar el transporte de productos diferentes al queso en el mismo vehículo, que puedan generar contaminación cruzada o recontaminación con *E. coli*, teniendo especial cuidado en separar los productos.





## 6 Carencia de datos y futuras necesidades de investigaciones

A partir de la revisión efectuada para la realización de este perfil, el panel identificó carencias de datos en los siguientes aspectos:

### Salud pública:

- No se encontraron reportes de prevalencia de *E. coli* ETEC o VTEC en quesos frescos producidos en Colombia, tampoco existen datos en la literatura internacional sobre la carga de ETEC y VTEC en quesos frescos.
- En Colombia no se hace serotipación de los aislamientos de *E. coli* obtenidos en los brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos por lo que no se puede establecer la especificidad de la cepa asociada y si ésta pertenece a un grupo patógeno.
- En Colombia no se encontró información disponible sobre el número de casos o brotes producidos por ETEC o VTEC asociados al consumo de queso fresco.
- En el país la notificación de brotes y casos de ETA, presenta una alta tasa de sub registro, la capacidad nacional para el seguimiento y atención de brotes, que incluye la toma adecuada de muestras biológicas, de alimentos y/o superficies, así como las técnicas nacionales de aislamiento de *E. coli* de las mismas, no permite la obtención de la información requerida para el establecimiento de la causalidad asociada a este microorganismo y sus cepas patógenas.
- No hay datos disponibles sobre casos de SUH asociados a *E. coli*.
- Los sistemas de información suministran datos variables, algunos como coliformes o *E. coli*, por lo que los datos específicos sobre ETEC y VTEC no existen.
- No hay información disponible sobre costos de carga de enfermedad, que incluya datos sobre asistencia al servicio de salud, días de incapacidad, costos asociados a la atención, porcentaje de sub registro, efectos secundarios, entre otras.
- **Diagnóstico de ETEC y VTEC en el laboratorio**

- En Colombia no hay un método oficial disponible para la identificación de serotipos de *E. coli* ETEC y VTEC en alimentos, ni en muestras clínicas.
- La capacidad técnica y operativa de los laboratorios que conforman la red nacional de laboratorios de salud pública es insuficiente para la detección e identificación de este microorganismo a partir de muestras biológicas, ambientales o alimentos. Cabe destacar que el laboratorio de microbiología del Instituto Nacional de Salud, cuenta con la técnica estandarizada y validada para el diagnóstico de *E. coli* O157:H7 a partir de muestra de materia fecal.
- Al no existir una norma que reglamente la búsqueda de estos grupos de *E. coli* en alimentos, los laboratorios se limitan a realizar coliformes fecales y *E. coli* genéricas.

### Datos de consumo

- No se cuenta con información de consumo real de quesos frescos, por grupos etarios. Adicionalmente no hay información disponible sobre la porción consumida.
- No hay información disponible sobre el volumen de quesos frescos elaborados de manera artesanal e industrial en el país.
- **Procesamiento**
- No hay datos de contaminación con ETEC y VTEC post proceso en quesos frescos.
- No hay información disponible sobre el volumen de quesos frescos elaborados a partir de leche cruda.

A partir de la evidencia disponible relacionada con ETEC y VTEC, no se encuentra pertinente la realización de un documento de Evaluación de Riesgos para la combinación de peligro-alimento objeto de este estudio, hasta que no existan los datos necesarios para realizar una evaluación de la exposición. Finalmente, la evidencia encontrada señala la importancia de desarrollar un perfil de riesgo de *E. coli* ETEC y VTEC en carne bovina y porcina.

### Futuras necesidades de investigación

Determinar la presencia de ETEC y VTEC en quesos frescos a lo largo de toda la cadena de procesamiento.

Datos de consumo, para este caso, en consumo de quesos frescos que incluya: frecuencia, consumo, tamaño de porción y tipo de queso por grupos etarios.

Cuando se presenten brotes de ETA asociados a *E. coli* será necesario investigar los serotipos que puedan estar involucrados, para ello es necesario ampliar la investigación en este campo.



## 7 Conclusiones

De acuerdo a las preguntas formuladas por el Gestor, en este perfil se puede concluir lo siguiente.

**Pregunta 1.** ¿Cuáles son los tipos de queso fresco que se elaboran y comercializan por región en el país?

Los tipos de queso fresco que se elaboran a partir de leche bovina en Colombia incluyen: cuajada, queso campesino, queso antioqueño, queso costeño, quesillo huilense o tolimese, queso molido nariñense y queso doble crema, las variaciones incluyen diferencias en la composición y la tecnología de producción.

Existen diferencias marcadas en las zonas de producción que se relacionan con condiciones climáticas, por esta razón en la Costa Atlántica y en el Meta, predomina el queso costeño; en el departamento de Antioquia el queso que más se produce y consume es el queso antioqueño; en el departamento de Nariño el queso molido nariñense que se realiza principalmente en la ciudad de San Juan de Pasto; el quesillo huilense o tolimese, que se elabora en los departamentos de Tolima, Huila, Valle, Cesar, Cauca, Cundinamarca, Risaralda y Quindío; y por último el queso doble crema, el cual es un queso de pasta hilada que se elabora fundamentalmente en Boyacá y Cundinamarca. Con relación al queso campesino y a la cuajada, se elaboran en la mayoría de las regiones del país, posiblemente asociado a la facilidad de elaboración, por lo cual se encuentra altamente distribuido.

**Pregunta 2.** ¿Cuáles son los factores de riesgo asociados a la presencia de cepas de *E. coli* patógenas en la producción de queso fresco?

De acuerdo con la información recolectada por el panel de expertos se determinó de manera independiente los factores de riesgo para ETEC y VTEC,

sin embargo en ambos casos se considera que el principal riesgo es el empleo de leche cruda contaminada con ETEC o VTEC para la elaboración de quesos.

Para el caso de ETEC, se estableció que la presencia de personal manipulador de alimentos asintomático o con cuadro clínico de la enfermedad, durante el procesamiento, se constituye en un factor de riesgo importante. El manipulador puede contaminar los equipos y utensilios durante las operaciones de ordeño, transporte, procesamiento y comercialización. Para *E.coli* ETEC, no se considera el ganado bovino un factor de riesgo, por cuanto los serotipos presentes en éste no causan patología en humanos.

Para el caso de VTEC, el principal factor de riesgo en la cadena primaria es el ganado bovino por cuanto se constituye en el principal reservorio de los serogrupos de VTEC; fallas en las prácticas de ordeño favorecen la contaminación de la leche, así como la presencia de estiércol en zonas aledañas por formación de aerosoles. Otro factor de riesgo es la presencia de animales tales como: cerdos, conejos, cabras, y perros, que al ser reservorios pueden contaminar las zonas de ordeño y al ganado. Así mismo, abonar los pastos con estiércol bovinos sin procesar y el uso de aguas de riego contaminadas favorece la diseminación del patógeno en las granjas.

La información revisada no muestra evidencia de que los humanos sean portadores permanentes de este grupo, por lo que no son considerados como fuentes de contaminación de alimentos. La contaminación cruzada durante la elaboración y comercialización del queso fresco puede incrementar el riesgo de este patógeno. Fallas en la cadena de frío pueden permitir la multiplicación de este microorganismo si está presente en el queso.

**Pregunta 3.** Acorde con los factores identificados previamente, ¿Cuáles son las medidas de control para *E. coli* patógenas en la producción de queso fresco en el país?

En el capítulo seis se detallan las medidas de control a lo largo de la cadena productiva para reducir la presencia de ETEC y VTEC en los quesos frescos. Siendo las más importantes la implementación de Buenas Prácticas Ganaderas, las Buenas prácticas de Manufactura, la pasteurización de la leche para la elaboración del queso y el mantenimiento de la cadena de frío a lo largo de todas las etapas de producción, incluido el transporte y comercialización.

## 8 RECOMENDACIONES

Una vez analizada la información el panel realiza las siguientes recomendaciones al Gestor.

### Gobierno

Los vacíos legislativos existentes, en cuanto a las directrices de vigilancia y control de brotes, hacen necesaria la inclusión de criterios obligatorios de monitoreo y reporte de los brotes producidos por los patotipos de *E. coli* dentro de la normatividad respectiva.

Establecer estrategias para el monitoreo de los patotipos de *E. coli* en las fases de la cadena productiva de mayor riesgo, de acuerdo al presente perfil, como son la producción primaria (VTEC); y la distribución en los puntos de venta (ETEC) donde existe el riesgo por contaminación cruzada a través de manipuladores portadores.

Es necesario mejorar la vigilancia de *E. coli* ETEC en salud pública de forma tal que se puedan establecer los serotipos circulantes en casos clínicos.

Complementario a los programas de capacitación mencionados, es importante direccionar estrategias de instrucción para el apoyo de las actividades de vigilancia y control de los brotes, incluyendo el seguimiento y construcción de agrupaciones epidemiológicas (clústers).

Se recomienda a las autoridades sanitarias encargadas de la Inspección, Vigilancia y Control sanitario la implementación y estandarización de las pruebas analíticas de los patotipos de *E. coli* aisladas de queso fresco y muestras humanas, de forma tal que los resultados puedan usarse con fines epidemiológicos.



Tomar como base la categorización de quesos frescos realizada en este estudio para definir los parámetros de clasificación y reporte dentro de los sistemas de inspección, vigilancia y control (INVIMA, DTS, MSPS). Dicha clasificación debe ir en concordancia con la reglamentación vigente para derivados lácteos.

Para la realización de los estudios mencionados en el capítulo siete, se deben proveer recursos por parte del Estado, que deben incluirse en las agendas de investigación. En estos estudios deben participar instituciones académicas, institutos de investigación, industria y gobierno.

Mejorar la capacidad científica, técnica y operativa de la red de laboratorios para identificar, serotipificar y reportar todas las cepas de VTEC y ETEC aisladas de muestras provenientes de animales, muestras biológicas y alimentos una vez creado este sistema se debe integrar a "pulse-net".

Implementar la notificación del síndrome urémico hemolítico en el SIVIGILA, como evento trazador asociado a *E. coli* VTEC.

## **Producción primaria**

Se recomienda la implementación de las Buenas Prácticas Ganaderas para los productores de leche, independientemente del número de animales que se tengan, haciendo especial énfasis en las buenas prácticas de ordeño.

La leche una vez se ha obtenido debe someterse a cadena de frío, en zonas alejadas se sugiere el acondicionamiento de tanques de frío que permita mantener la leche por debajo de 6°C.

El transporte de la leche debe realizarse a los centros de acopio en tanques isotérmicos que mantengan la temperatura de la leche.

## **Industria**

Realizar la capacitación pertinente a tenderos y operarios de supermercados sobre la necesidad de mantener la cadena de frío y las prácticas de manejo del producto para evitar la contaminación cruzada con *E. coli*.

Desarrollar programas de capacitación relacionados con los mecanismos de contaminación con los patotipos de *E. coli* y las actividades de prevención necesarias para la minimización del riesgo de instauración del microorganismo en el producto.

Reforzar en los operarios la necesidad de reportar cualquier enfermedad diarreica a su supervisor con el fin de tomar medidas preventivas.

Con la aparición de nuevas tecnologías como los pulsos eléctricos, tratamientos con altas presiones, se hace necesario seguir investigando la aplicabilidad de éstas en la higienización de la leche, teniendo en cuenta el impacto económico que puede tener en el valor final del producto.

### **Academia**

Incentivar la investigación enfocada a la identificación de microorganismos patógenos y su distribución en la cadena láctea.

Formular programas de formación en posgrado que incluyan materias de inocuidad y análisis de riesgos.



# ABREVIATURAS, SIGLAS Y ACRÓNIMOS

## ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL DOCUMENTO

AIFST	<i>Australian Institute of Food Science Technology</i> (Instituto Australiano de Ciencia y Tecnología en Alimentos)
ANALAC	Asociación Nacional de Productores de Leche
$a_w$	Actividad de agua
BPG	Buenas Prácticas Ganaderas
CDC	Center Diseases Control
DANE	Departamento Administrativo Nacional de Estadística
ENA	Encuesta Nacional Agropecuaria
DTS	Direcciones territoriales de salud
ETA	Enfermedad transmitida por alimentos
ETEC	<i>E. coli</i> enterotoxigénica
ERIA	Grupo de evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos
FEDEGAN	Federación Colombiana de Ganaderos
FSIS	<i>Food Safety and Inspection Service</i> (Servicio de Seguridad Alimentaria e Inspección)
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i> (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura)
ICMSF	<i>International Commission of Microbiological Specification for Foods</i> (Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos)
ICA	Instituto Colombiano Agropecuario
ICTA	Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos
INS	Instituto Nacional de Salud
LT	Termolábil (enterotoxina)
MO	Microorganismos
MSF	Medidas Sanitarias y Fitosanitarias
MSPS	Ministerio de Salud y Protección Social
MUG	Metilumbelliferil- $\beta$ -D-glucuronido
OMS	Organización Mundial de la Salud

OPS	Organización Pamericana de la Salud
PEF	Pulsos Eléctricos de Alta Intensidad
PTT	Púrpura trombocitopénica trombótica
SIVIGILA	Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública
STX	Toxinas Shiga
SUH	Síndrome urémico hemolítico
ST	Termoestable (enterotoxina)
UFC	Unidades formadoras de colonias
USDA	United States Department of Agriculture (Departamento de Agricultura de los Estados Unidos)
VTEC	<i>E. coli</i> verotoxigénica

## GLOSARIO

**Anuria:** ausencia de la producción de orina o una producción urinaria menor de 100 ml en 24 horas.

**Anemia hemolítica microangiopática:** trastorno en el cual el estrechamiento o la obstrucción de vasos sanguíneos delgados, conduce a deformación y fragmentación de los eritrocitos, hemólisis y anemia.

**Brote de enfermedad transmitida por alimentos:** la Organización Mundial de la Salud acepta las siguientes definiciones:

- El número observado de casos de una enfermedad en particular que supera el número esperado.
- La ocurrencia de dos o más casos de una enfermedad transmitida por alimentos similares que resultan de la ingestión de un alimento común.

**Colitis hemorrágica:** calambres abdominales y diarrea con sangre, sin fiebre, atribuido a una infección autolimitada por una cepa de *Escherichia coli*.

**Epistaxis:** Hemorragia nasal.

**Factor de virulencia:** corresponde a moléculas expresadas y secretadas por patógenos que les permiten alcanzar condiciones relacionadas con el desarrollo de la enfermedad, como la colonización de un nicho en el hospedero (incluyendo la adhesión celular), evasión de la respuesta inmune del hospedero, inhibición de la respuesta inmune del hospedero, entrada y salida de la célula hospedera y obtención de nutrientes del hospedero.

**Grupo etario:** separación de grupos de personas teniendo como base su edad.

**Hemorragias gingivales:** flujo de sangre por rotura de vasos sanguíneos en las encías.

**Hemorragias retinianas:** flujo de sangre por rotura de vasos sanguíneos en la membrana interior del ojo, encargada de recibir imágenes y enviarlas al cerebro a través del nervio óptico.

**Metrorragias:** hemorragia de la matriz a intervalos irregulares y fuera del período menstrual.

**Oliguria:** disminución en la producción de orina.

**Patotipo:** clasificación de un patógeno distinguido de otros de su misma especie por su patogenicidad en un huésped específico.

**Petequia:** mancha pequeña en la piel, debida a efusión interna de sangre.

**Púrpura cutánea:** trastorno hemorrágico, caracterizado por petequias o equimosis, producto de la ruptura de vasos sanguíneos debajo de la piel.

**Rabdomiolisis:** destrucción rápida de las fibras musculares debido a lesión generada en el tejido muscular. Esta destrucción conduce a la liberación en el torrente sanguíneo de los productos de degradación de las células del músculo dañadas, entre ellos, la mioglobina.

**Reservorio:** población de seres vivos que aloja de forma crónica el germen de una enfermedad, la cual puede propagarse como epidemia.

**Sepsis:** afección generalizada producida por la presencia en la sangre de microorganismos patógenos o de sus toxinas.

**Serotipo:** variación distintiva dentro de una subespecie de bacteria o virus. La determinación de serotipos usualmente toma en cuenta diversos factores como la virulencia, composición de lipopolisacáridos (en gram negativas), y presencia de exotoxinas fagos y plásmidos.

**Trombocitopenia:** disminución anormal del número de plaquetas en sangre, que en la población humana corresponde a 150.000–450.000 plaquetas por microlitros de sangre en condiciones normales. Una indicación comúnmente utilizada para definir el término se relaciona con disminución en el número de plaquetas a niveles menores a 50.000 plaquetas por microlitros de sangre.

**Valor D.** es el tiempo en minutos que se tarda en reducir el 90% de la población a una determinada temperatura.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stephan R, Schumacher S, Corti S, Krause G, Danuser J, Beutin L. Prevalence and Characteristics of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* in Swiss Raw Milk Cheeses Collected at Producer Level. *Journal of Dairy Science*. 2008;91(7):2561-5.
2. Rodriguez E, Arques JL, Nuñez M, Gaya P, Medina M. Combined effect of high-pressure treatments and bacteriocin-producing lactic acid bacteria on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in raw-milk cheese. *App Environ Microbiol*. 2005;71(7):3399-404.
3. Rivas M, Leotta G, Chinen I. Manual de Procedimientos. Diagnóstico y caracterización de *Escherichia coli* O157 productor de toxina Shiga a partir de alimentos. 2008. 156 p.
4. Honish L, Predy G, Hislop N, Chui L, Kowalewska-Grochowska K, Trottier L, Kreplin C, Zazulak I. An outbreak of *E. coli* O157: H7 hemorrhagic colitis associated with unpasteurized gouda cheese. *Canadian Journal of Public Health/Revue Canadienne de Sante'e Publique*. 2005:182-4.
5. Feng P. XI Congreso Latinoamericano de Microbiología e Higiene de Alimentos Microal 2012. In: Rivas M, editor. Foodborne transmission of STEC-emergin problems and persistent infections; Buenos Aires Argentina: ICMSF; 2012. p. 24.
6. Nataro JP, Kaper JB. Diarrheagenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11(1):142-201.
7. Mattar S, Visbal J, Arrieta G. *E. coli* O157: H7 enterohemorrágico: un agente etiológico de diarrea en Colombia subestimado. Parte II. *Revista MVZ Córdoba*. 2001;6(2):81-6.
8. Brooks J, Martínez B, Stratton J, Bianchini A, Krokstrom R, Hutkins R. Survey of raw milk cheeses for microbiological quality and prevalence of foodborne pathogens. *Food microbiology*. 2012;31(2):154-8.
9. Doyle MP, Beuchat LR, Montville TJ. Microbiología de los alimentos: fundamentos y fronteras: Acricbia; 2001.



10. Bravo EC, Gómez LEM, Ramírez MLC, Juárez CG, Flores FA, Roldán EIC. Identificación de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas en diferentes ambientes. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 2007;27(3):70-4.
11. Cagri-Mehmetoglu A, Yaldirak G, Bodur T, Simsek M, Bozkir H, Eren NM. Incidence of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157:H7 in two Kasar Cheese processing environments. *Food Control*. 2011;22(5):762-6.
12. Federación Colombiana de Ganaderos FEDEGAN. Draw Stat. Disponible en: <http://64.64.23.54/DOC/drawStatWidgetFilter.jsp#>. Consulta: Mayo de 2015.
13. Vernozy-Rozand C. Detection of *Escherichia coli* O157: H7 and other verocytotoxin-producing *E. coli* (VTEC) in food. *J Appl Microbiol*. 1997;82(5):537-51.
14. van Elsas JD, Semenov AV, Costa R, Trevors JT. Survival of *Escherichia coli* in the environment: fundamental and public health aspects. *ISMEJ*. 2011;5(2):173-83.
15. Takeda Y. *Vibrio parahaemolyticus*, enterotoxigenic *Escherichia coli*, enterohemorrhagic *Escherichia coli* and *Vibrio cholerae*. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2011;87(1):1.
16. James J. Microbiología Moderna de los Alimentos Cuarta Edición. Editorial Acribia. Zaragoza, España pg. 2002;132:404-92.
17. Rodríguez-Angeles G. Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. *Salud pública de México*. 2002;44(5):464-75.
18. Lasaro M, Rodrigues J, Mathias-Santos C, Guth B, Balan A, Sbrogio-Almeida M, Ferreira L. Genetic diversity of heat-labile toxin expressed by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains isolated from humans. *J Bacteriol*. 2008;190(7):2400-10.
19. Qadri F, Svennerholm A-M, Faruque A, Sack RB. Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(3):465-83.
20. Öksüz Ö, Arici M, Kurultay S, Gümüs T. Incidence of *Escherichia coli* O157 in raw milk and white pickled cheese manufactured from raw milk in Turkey. *Food Control*. 2004;15(6):453-6.
21. EFSA. Scientific Opinion on VTEC-seropathotype and scientific criteria regarding pathogenicity assessment. *EFSA Journal*. 2013;11(4):3138.

22. Madic J, Vingadassalon N, de Garam CP, Marault M, Scheutz F, Brugère H, Jamet E, Auvray F. Detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* serotypes O26: H11, O103: H2, O111: H8, O145: H28, and O157: H7 in raw-milk cheeses by using multiplex real-time PCR. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(6):2035-41.
23. O'Brien M, Hunt K, McSweeney S, Jordan K. Occurrence of foodborne pathogens in Irish farmhouse cheese. *Food Microbiology.* 2009;26(8):910-4.
24. Donnelly CW. Growth and Survival of Microbial Pathogens in Cheese. In: Patrick F, Fox PLHMTMC, Timothy PG, editors. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*: Academic Press; 2004. p. 541-59.
25. Taylor J, Wilkins MP, Payne J. Relation of rabbit gut reaction to enteropathogenic *Escherichia coli*. *Br J Exp Pathol.* 1961;42(1):43.
26. DuPont HL, Formal SB, Hornick RB, Snyder MJ, Libonati JP, Sheahan DG, LaBrec EH, Kalas JP. Pathogenesis of *Escherichia coli* diarrhea. *New Engl J Med.* 1971;285(1):1-9.
27. Fukuta S, Magnani JL, Twiddy EM, Holmes RK, Ginsburg V. Comparison of the Carbohydrate-Binding Specificities of Cholera Toxin and *Escherichia coli* Heat-labile Enterotoxins LTHI, LTIIa, and LTIIb. *Infection and Immunity.* 1988;56(7):1748-53.
28. Rasheed J, Guzmán-Verduzco LM, Kupersztoch Y. Two precursors of the heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*: evidence of extracellular processing. *Mol Microbiol.* 1990;4(2):265-73.
29. Arriaga YL, Harville BA, Dreyfus LA. Contribution of individual disulfide bonds to biological action of *Escherichia coli* heat-stable enterotoxin B. *Infection and immunity.* 1995;63(12):4715-20.
30. Iurlina MO, Fritz Ra. Microbiological quality of Port Salut Argentino cheese stored at two temperature treatments. *LWT - Food Science and Technology.* 2004;37(7):739-48.
31. Canizalez-Roman A, Gonzalez-Nuñez E, Vidal JE, Flores-Villaseñor H, León-Sicairos N. Prevalence and antibiotic resistance profiles of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from food items in northwestern Mexico. *International Journal of Food Microbiology.* 2013;164(1):36-45.
32. Farrokh C, Jordan K, Auvray F, Glass K, Oppegaard H, Raynaud S, Thevenot D, Condrón R, De Reu K, Govaris A, Heggum K, Heyndrickx M, Hummerjohann J, Lindsay D, Miszczyscha S, Moussié S, Verstraete K, Cerf O. Review of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and their

- significance in dairy production. *International Journal of Food Microbiology*. 2013;162(2):190-212.
33. Herrera A, Espinosa BJ, Nuñez G, Espinoza N, Maves RC, Martin GJ. The Effect of Preparation of Cebiche on the Survival of Enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, and *Vibrio parahaemolyticus*. *J Travel Med*. 2010;17(6):395-9.
  34. Pearce L, Smythe B, Crawford R, Oakley E, Hathaway S, Shepherd J. Pasteurization of milk: the heat inactivation kinetics of milk-borne dairy pathogens under commercial-type conditions of turbulent flow. *J Dairy Sci*. 2012;95(1):20-35.
  35. O'Brien AD, LaVeck GD, Thompson MR, Formal SB. Production of *Shigella dysenteriae* type 1-like cytotoxin by *Escherichia coli*. *J Infect Dis*. 1982;146(6):763-9.
  36. Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *New Eng J Med*. 1983;308(12):681-5.
  37. Karmali M, Petric M, Steele B, Lim C. Sporadic cases of haemolytic-uraemic syndrome associated with faecal cytotoxin and cytotoxin-producing *Escherichia coli* in stools. *The Lancet*. 1983;321(8325):619-20.
  38. Calderwood S. Proposed new nomenclature for SLT (VT) family. *ASM news*. 1996;62:118-9.
  39. Pennington H. *Escherichia coli* O157. *The Lancet*. 2010;376(9750):1428-35.
  40. On S, Lake R, Whyte R. Risk Profile: Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in raw milk. Limited IOESR, editor: New Zealand; 2007. 84 p. 2007.
  41. Desmarchelier P, Fegan N. Pathogens in Milk | *Escherichia coli*. In: Fuquay JW, editor. *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*. San Diego: Academic Press; 2011. p. 60-6.
  42. Abdul-Raouf U, Beuchat L, Ammar M. Survival and growth of *Escherichia coli* O157: H7 on salad vegetables. *Appl Environ Microbiol*. 1993;59(7):1999-2006.
  43. Trevisani M, Mancusi R, Delle Donne G, Bacci C, Bassi L, Bonardi S. Detection of Shiga toxin (Stx)-producing *Escherichia coli* (STEC) in bovine dairy herds in Northern Italy. *International Journal of Food Microbiology*. 2014;184(0):45-9.

44. Johnson TJ, Nolan LK. Pathogenomics of the virulence plasmids of *Escherichia coli*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2009;73(4):750-74.
45. Krause DO, Hendrick S. Zoonotic pathogens in the food chain: CABI; 2010.
46. Erickson JP, Stamer JW, Hayes M, McKenna DN, Van Alstine LA. An assessment of *Escherichia coli* O157: H7 contamination risks in commercial mayonnaise from pasteurized eggs and environmental sources, and behavior in low-pH dressings. *J Food Protect*. 1995;58(10):1059-64.
47. Leyer GJ, Wang L-L, Johnson EA. Acid adaptation of *Escherichia coli* O157: H7 increases survival in acidic foods. *Appl Environ Microbiol*. 1995;61(10):3752-5.
48. Duncan S, Booth I, Flint H, Stewart C. The potential for the control of *Escherichia coli* O157 in farm animals. *J Appl Microbiol*. 2000;88(S1):157S-65S.
49. Rigsbeel WW, Simpson L, Oliver J. Detection of the viable but nonculturable state in *Escherichia coli* O157: H7. *J Food Safety*. 1997;16(4):255-62.
50. Pommepey M, Butin M, Derrien A, Gourmelon M, Colwell R, Cormier M. Retention of enteropathogenicity by viable but nonculturable *Escherichia coli* exposed to seawater and sunlight. *Appl Environ Microbiol*. 1996;62(12):4621-6.
51. Calderón-Miranda M, González M, Barbosa-Cánovas GV, Swanson BG. Métodos no térmicos para procesamiento de alimentos: Variables e inactivación microbiana. *Braz J Food Technol*. 1998;1:3-11.
52. Chirinos RR, Vizeu DM, Destro MT, Franco BD, Landgraf M. Inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in hamburgers by gamma irradiation. *Brazilian J Microbiol*. 2002;33(1):53-6.
53. Gilbert S, Lake R, Whyte R. Risk Profile: Shiga-toxin producing *Escherichia coli* in raw milk. Limited IOESR, editor: New Zealand; 2007. 84 p. 2007.
54. Hancock D, Besser T, Lejeune J, Davis M, Rice D. The control of VTEC in the animal reservoir. *Int J Food Microbiol*. 2001;66(1):71-8.
55. Blanco M, Blanco JE, Dahbi G, Alonso MP, Mora A, Coira MA, Madrid C, Juárez A, Bernárdez MI, González EA. Identification of two new intimin types in atypical enteropathogenic *Escherichia coli*. *Int Microbiol*. 2010;9(2):103-10.
56. Bolton D, Duffy G, O'Neil C, Baylis C, Tozzoli R, Morabito S, Wasteson Y, Lofdahl S. Epidemiology and Transmission of Pathogenic *Escherichia coli*. *Ashtown Dublin Ireland: Ashtown Food Research Centre*. 2009.

57. Rice DH, Ebel ED, Hancock DD, Besser TE, Herriott DE, Carpenter LV. Escherichia coli O157 in cull dairy cows on farm and at slaughter. *J Food Prot.* 1997;60(11):1386-7.
58. Naylor SW, Low JC, Besser TE, Mahajan A, Gunn GJ, Pearce MC, McKendrick IJ, Smith DG, Gally DL. Lymphoid follicle-dense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7 in the bovine host. *Infection and immunity.* 2003;71(3):1505-12.
59. Karmali MA, Gannon V, Sargeant JM. Verocytotoxin-producing Escherichia coli (VTEC). *Vet Microbiol.* 2010;140(3):360-70.
60. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention. Disponible en: <http://www.cdc.gov/outbreaknet/outbreaks.html>. Consultado: Noviembre 2013.
61. Center for Disease Control and Prevention (CDC). Diarrheagenic Escherichia coli (non-Shiga-toxin-producing E. coli). Disponible en: [http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/diarrheagenic\\_ecoli/technical.html](http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/diarrheagenic_ecoli/technical.html). Consultado: Noviembre de 2013.
62. U.S. Department of Agriculture USDA. Microbiology Laboratory Guidebook 2013. Disponible en: <http://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/science/laboratories-and-procedures/guidebooks-and-methods/microbiology-laboratory-guidebook/microbiology-laboratory-guidebook>. Consultado: Noviembre de 2013.
63. ISO/TS 13136:201. 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.
64. FDA US Food and Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual 2009: Chapter 4a. Diarrheic E. coli. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM070080>. Consulta: Febrero 2011.
65. Hopkins KL, Hilton AC. Methods available for the sub-typing of Escherichia coli O157. *World J Microbiol Biotechnol.* 2000;16(8-9):741-8.
66. ECDC. European Centre for Disease Prevention and Control 2013. Disponible en: <http://www.ecdc.europa.eu/en/Pages/home.aspx>. Consultado: Octubre de 2013

67. Ministerio de Salud de Colombia. Resolución 2310 de 1986 "Por la cual se reglamenta parcialmente el Título V de la Ley 09 de 1979, en lo referente a procesamiento, composición, requisitos, transporte y comercialización de los Derivados Lácteos". .
68. Larrañaga I, Carballo J, Rodríguez M, Fernández J. Control e higiene de los alimentos. Grado superior. : McGraw-Hill Interamericana de España S.A.; 1999. 544 p.
69. Jagnow G, Dawid W. Biotecnología: Introducción con experimentos modelo. Primera edición. S.A. A, editor 1991.
70. Manuales para educación agropecuaria. Elaboración de productos lácteos. edición. TS, editor. México.1982. 122 p.
71. Lake R, Hudson A, Cressey P, Gilbert S. Risk Profile: Listeria monocytogenes in soft cheese. New Zealand: Christchurch Science Centre; 2005. 105 p.
72. FAO. Perspectivas de la agricultura 2010-2020 OCDE FAO. Roma: FAO; 2010. 280 p.
73. FAO. Perspectivas agrícolas. Tendencias y perspectivas del mercado mundial. Capítulo 5. FAO, editor. 2005
74. Federación Colombiana de Ganaderos FEDEGAN. Disponible en: [http://portal.fedegan.org.co/portal/page?\\_pageid=93\\_42332365&\\_dad=portal&\\_schema=PORTAL](http://portal.fedegan.org.co/portal/page?_pageid=93_42332365&_dad=portal&_schema=PORTAL). Consultado: Noviembre 2013.
75. Patiño R. Detección de Listeria monocytogenes, Escherichia coli O157:H7 y Salmonella spp en muestras de leche bovina del sistema de producción doble propósito colombiano. Tesis de maestría Pontificia Universidad Javeriana. 2012.
76. Ministerio de Comercio, Industria y turismo.Disponible en:<http://www.mincit.gov.co>. Consultado: Noviembre 2013.
77. Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia.Instituto Nacional de Salud. Identificación de Riesgos Biológicos Asociados al consumo de leche cruda bovina en Colombia. INS, editor 2011. 111 p.
78. Departamento Nacional de Planeación. El Consejo Nacional de Política Económica y Social Documento Conpes 3675. Política Nacional para mejorar la competitividad del sector lácteo colombiano. 2010.
79. Calderón A, García F, Martínez G. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. *Rev MVZ Córdoba*. 2006;11(1):1-16.
80. Piñeros G, Téllez I, Cubillos A. La calidad como factor de competitividad en la cadena láctea. Caso: Cuenca lechera del Alto Chicamocha

- (Boyacá). Grupo de Investigación en Gestión de Empresas Pecuarias (GIGEP). Universidad Nacional de Colombia; 2005. 98 p.
81. Gaviria BC. Buenas Prácticas de producción primaria de leche. Calidad Higiénica y sanitaria de la leche cruda. Biogénesis. FE, editor. Medellín Colombia 2007.
  82. Departamento Nacional de Planeación. El Consejo Nacional de Política Económica y Social Documento Conpes 3676. Política Sanitaria y de Inocuidad para las cadenas láctea y cárnica Política Nacional para mejorar la competitividad del sector lácteo colombiano. 2010. 84 p.
  83. Al alza producción y comercialización de leche colombiana. Disponible en:  
<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.contextoganadero.com/internacional/al-alza-produccion-y-comercializacion-de-leche-colombiana>. Consulta: Mayo de 2015.
  84. Departamento Administrativo Nacional de Estadística DANE. Resultados Encuesta Nacional Agropecuaria 2011.
  85. Mazzeo M. Tecnología de lácteos. Guía de aprendizaje. Caldas. Universidad de Caldas, editor. Manizales. 2007. 312 p.
  86. Gómez M. Tecnología de lácteos. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. UNAD, editor. Bogotá. 2005. 348 p.
  87. Jaramillo M, Mejía L, Sepúlveda J. Quesos frescos y de pasta hilada. : Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos.; 1993.
  88. Jaramillo M, Mejía L, Sepúlveda J. Quesos frescos y de pasta hilada. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Departamento de Ingeniería Agrícola y Alimentos.; 1993. 175 p.
  89. Acevedo N. Diseño de un programa de monitoreo para *Listeria monocytogenes* en el proceso de elaboración de "quesito antioqueño", en el departamento de Antioquia, Colombia. San José, Costa Rica: Universidad para la Cooperación Internacional; 2010.
  90. Fegan N, Vanderlinde P, Higgs G, Desmarchelier P. The prevalence and concentration of *Escherichia coli* O157 in faeces of cattle from different production systems at slaughter. *J Appl Microbiol.* 2004;97(2):362-70.
  91. Stephan R, Schumacher S, Corti S, Krause G, Danuser J, Beutin L. Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Swiss raw milk cheeses collected at producer level. *J Dairy Sci.* 2008;91(7):2561-5.

92. Callaway TR, Carr M, Edrington T, Anderson RC, Nisbet DJ. Diet, Escherichia coli O157: H7, and cattle: a review after 10 years. *Current Issues Mol Biol.* 2009;11(2):67.
93. Liebana E, Smith RP, Batchelor M, McLaren I, Cassar C, Clifton-Hadley FA, Paiba GA. Persistence of Escherichia coli O157 isolates on bovine farms in England and Wales. *J Clin Microbiol.* 2005;43(2):898-902.
94. Schouten JM. Verocytotoxin producing E. coli O157 on farms: Prevalences, risk factor and transmission. The Netherlands: Wagening University of Animal Sciences; 2005.
95. Wang G, Doyle MP. Survival of enterohemorrhagic Escherichia coli O157: H7 in water. *J Food Protect.* 1998;61(6):662-7.
96. Manafi M. New developments in chromogenic and fluorogenic culture media. *Inter J Food Microbiol.* 2000;60(2):205-18.
97. Oliver HF, Wiedmann M, and Boor KJ. Environmental Reservoir and Transmission into the Mammalian Host. Department of Food Science, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA; 2005.
98. Murinda S, Nguyen L, Ivey S, Gillespie B, Almeida R, Draughon F, Oliver S. Prevalence and molecular characterization of Escherichia coli O157: H7 in bulk tank milk and fecal samples from cull cows: a 12-month survey of dairy farms in east Tennessee. *J Food Protect.* 2002;65(5):752-9.
99. Murinda SE, Nguyen LT, Landers TL, Draughon FA, Mathew AG, Hogan JS, Smith KL, Hancock DD, Oliver SP. Comparison of Escherichia coli isolates from humans, food, and farm and companion animals for presence of Shiga toxin-producing E. coli virulence markers. *Foodborne Pathog Dis.* 2004;1(3):178-84.
100. Oliver SP, Jayarao BM, Almeida RA. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathogens & Disease.* 2005;2(2):115-29.
101. Kousta M, Mataragas M, Skandamis P, Drosinos EH. Prevalence and sources of cheese contamination with pathogens at farm and processing levels. *Food Control.* 2010;21(6):805-15.
102. Carrillo B, González M, Schobitz R. Niveles de contaminación microbiológica en equipos de recepción y almacenamiento de leche, en centros de acopio de la provincia de Valdivia. *Agro sur.* 2004;32(2):45-53.
103. Schlessner J, Gerdes R, Ravishankar S, Madsen K, Mowbray J, Teo A-L. Survival of a five-strain cocktail of Escherichia coli O157: H7 during the



- 60-day aging period of cheddar cheese made from unpasteurized milk. *Journal of Food Protection*®. 2006;69(5):990-8.
104. Rivero MA, Padola NL, Etcheverría AI, Parma AE. Escherichia coli enterohemorrágica y síndrome urémico hemolítico en Argentina. *Medicina (Buenos Aires)*. 2004;64(4):352-6.
  105. Little CL, Rhoades JR, Sagoo SK, Harris J, Greenwood M, Mithani V, Grant K, McLauchlin J. Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiology*. 2008;25(2):304-12.
  106. Rasheed JK, Guzmán-Verduzco L-M, Kupersztoch YM. Two precursors of the heat-stable enterotoxin of Escherichia coli: evidence of extracellular processing. *Molecular Microbiology*. 2006;4(2):265-73.
  107. USDA. U.S. Department of Agriculture. Bad Bug Book: Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook Escherichia coli O157: H7. 2009.
  108. Fernández R, Rodríguez C, Rodríguez I, Gómez F. Escherichia coli como causa de diarrea infantil. *Rev Cubana Pediatría*. 2003;75(3).
  109. Organización Mundial de la Salud, Estadísticas Sanitarias Mundiales. 2010. Disponible en: [http://www.who.int/whosis/ES\\_WHS10\\_Full.pdf](http://www.who.int/whosis/ES_WHS10_Full.pdf). Consulta: Abril de 2015.
  110. Doyle M, Beuchat L, Montville T. Microbiología de los Alimentos. Fundamentos y Fronteras. Editorial Acribia Zaragoza, España. 2005.
  111. Safdar N, Said A, Gangnon RE, Maki DG. Risk of hemolytic uremic syndrome after antibiotic treatment of Escherichia coli O157: H7 enteritis: a meta-analysis. *JAMA*. 2002;288(8):996-1001.
  112. Rotariu O, Ogden I, MacRitchie L, Forbes K, Williams A, Cross P, Hunter C, Teunis P, Strachan N. Combining risk assessment and epidemiological risk factors to elucidate the sources of human E. coli O157 infection. *Epidemiology and Infection*. 2012;140(08):1414-29.
  113. Acuña W, Guevara J. Infección por Escherichia coli enterohemorrágica. *Revista de Facultad de Medicina Humana*. 2002;3(1):38-41.
  114. Bacon RT, Sofos JN. Characteristics of biological hazards in foods. *Food safety handbook*. 2003:156-67.
  115. Karmali MA. Infection by verocytotoxin-producing Escherichia coli. *Clin Microbiol Rev*. 1989;2(1):15-38.
  116. LeBlanc JJ. Implication of virulence factors in Escherichia coli O157: H7 pathogenesis. *Critical Rev Microbiol*. 2003;29(4):277-96.

117. Espié E, Vaillant V, Mariani-Kurkdjian P, Grimont F, Martin-Schaller R, De Valk H, Vernozy-Rozand C. Escherichia coli O157 outbreak associated with fresh unpasteurized goats' cheese. *Epidemiol Infect.* 2006;134(01):143-6.
118. Bégué RE, Neill MA, Papa EF, Dennehy PH. A prospective study of Shiga-like toxin-associated diarrhea in a pediatric population. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 1994;19(2):164-9.
119. Vivegnis J, El Lioui M, Leclercq A, Lambert B, Decallonne J. Detection of Shiga-like toxin producing Escherichia coli from raw milk cheeses produced in Wallonia. *Biotechnol Agron Soc Environ.* 1999;3(3):159-64.
120. Caro I, García-Armesto MR. Occurrence of Shiga toxin-producing Escherichia coli in a Spanish raw ewe's milk cheese. *Int J Food Microbiol.* 2007;116(3):410-3.
121. Cagri-Mehmetoglu A, Yaldirak G, Bodur T, Simsek M, Bozkir H, Eren NM. Incidence of Listeria monocytogenes and Escherichia coli O157: H7 in two Kasar Cheese processing environments. *Food Control.* 2011;22(5):762-6.
122. Mora A, León SL, Blanco M, Blanco JE, López C, Dahbi G, Echeita A, González EA, Blanco J. Phage types, virulence genes and PFGE profiles of Shiga toxin-producing Escherichia coli O157: H7 isolated from raw beef, soft cheese and vegetables in Lima (Peru). *International journal of food microbiology.* 2007;114(2):204-10.
123. Ansay S, Kaspar C. Survey of retail cheeses, dairy processing environments and raw milk for Escherichia coli O157: H7. *Letters App Microbiol.* 1997;25(2):131-4.
124. Gonzalez AG, Rosa AC, Andrade JR, Tibana A. Enteropathogenicity markers in Escherichia coli strains isolated from soft white cheese and poultry in Rio de Janeiro, Brazil. *Food Microbiol.* 2000;17(3):321-8.
125. Coia J, Johnston Y, Steers N, Hanson M. A survey of the prevalence of Escherichia coli O157:H7 in raw meats, raw cow's milk and raw-milk cheeses in south-east Scotland. *Int J Food Microbiol.* 2001;66:63-9.
126. Conedera G, Dalvit P, Martini M, Galiero G, Gramaglia M, Goffredo E, Loffredo G, Morabito S, Ottaviani D, Paterlini F. Verocytotoxin-producing Escherichia coli O157 in minced beef and dairy products in Italy. *Inter J Food Microbiol.* 2004;96(1):67-73.
127. Vernozy-Rozand C, Montet M, Berardin M, Bavai C, Beutin L. Isolation and characterization of Shiga toxin-producing Escherichia coli strains from raw milk cheeses in France. *Letters App Microbiol.* 2005;41(3):235-41.

128. Quinto E, Cepeda A. Incidence of toxigenic *Escherichia coli* in soft cheese made with raw or pasteurized milk. *Letters App Microbiol.* 1997;24(4):291-5.
129. Comunicación personal. 2015. Gerardo LEOTTA, Investigador Adjunto (CONICET), Profesor Adjunto Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad Nacional de La Plata (UNLP).
130. Gerber A, Karch H, Allerberger F, Verweyen HM, Zimmerhackl LB. Clinical course and the role of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in the hemolytic-uremic syndrome in pediatric patients, 1997–2000, in Germany and Austria: a prospective study. *J Infect Dis.* 2002;186(4):493-500.
131. Hall G, Yohannes K, Raupach J, Becker N, Kirk M. Estimating community incidence of *Salmonella*, *Campylobacter*, and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections, Australia. *Emerg Infect Dis.* 2008;14(10):1601.
132. Pitout J. Population-Based Laboratory Surveillance for *Escherichia coli* - Producing Extended-Spectrum B-Lactamases: Importance of Community Isolates with *bla<sub>TEM</sub>* Genes. *Clinical Infectious Diseases.* *Clin Infect Dis.* 2004;38:1736-41.
133. Reilly A. Prevention and control of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections: memorandum from a WHO meeting. WHO Consultation on Prevention and Control of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) Infections. *Bulletin of the World Health Organization.* 1998;76(3):245.
134. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, Tauxe RV, Widdowson M-A, Roy SL, Jones JL, Griffin PM. Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerg Infect Dis.* 2011;17(7).
135. Fadul L, Quecano M. Evaluación de la flora microbiana del queso Paipa durante diferentes periodos de maduración: Tesis de licenciatura. Universidad de la Salle. Facultad de Zootecnia; 2005.
136. Sistema Nacional de Vigilancia en Salud Pública (SIMGILA), Informes epidemiológicos, Instituto Nacional de Salud, Colombia, 2011- 2014.
137. Strachan NJ, Doyle MP, Kasuga F, Rotariu O, Ogden ID. Dose response modelling of *Escherichia coli* O157 incorporating data from foodborne and environmental outbreaks. *Inter Food Microbiol.* 2005;103(1):35-47.
138. Teunis P, Takumi K, Shinagawa K. Dose response for infection by *Escherichia coli* O157: H7 from outbreak data. *Risk Analysis.* 2004;24(2):401-7.

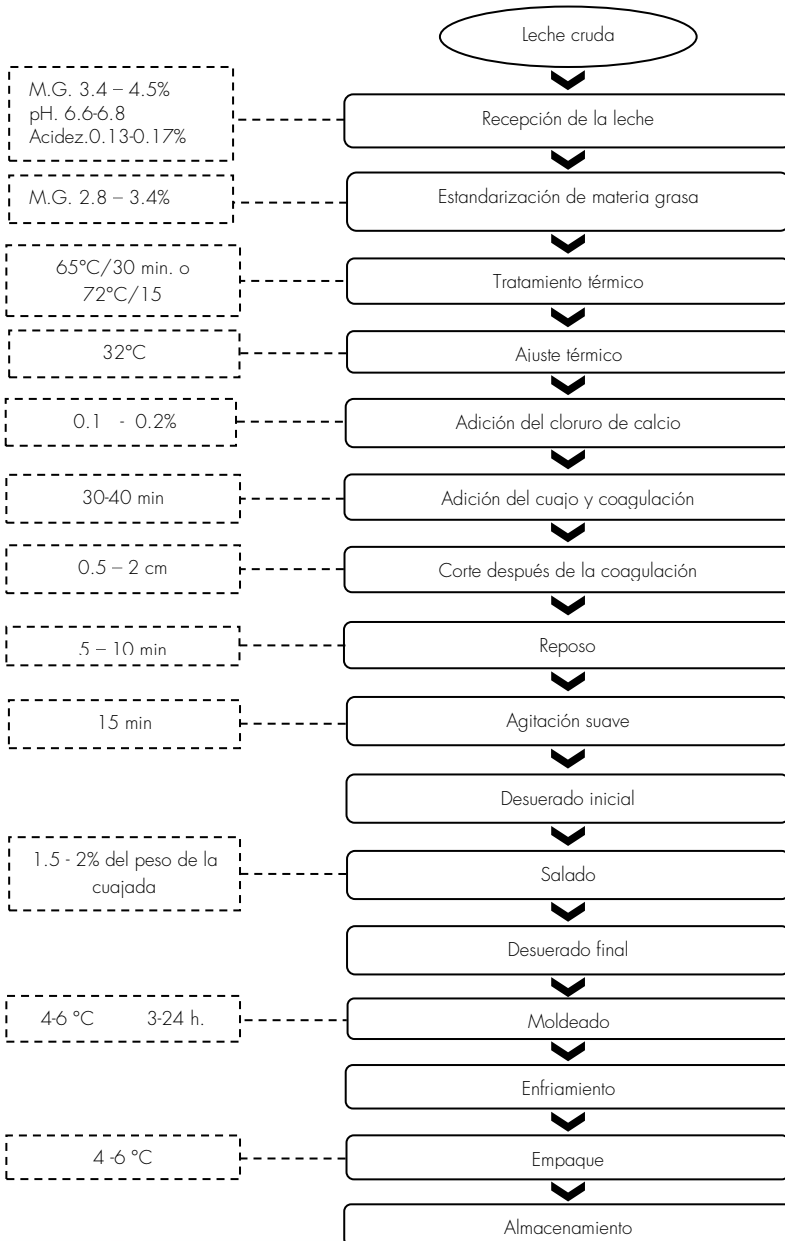
139. Haas CN, Thayer-Madabusi A, Rose JB, Gerba CP. Development of a dose-response relationship for *Escherichia coli* O157: H7. *Inter J Food Microbiol.* 2000;56(2):153-9.
140. Food Safety and Inspection Service. Risk Assessment of the Public Health Impact of *Escherichia coli* O157:H7 in Ground Beef. 2001:1-171.
141. Slutsker L, Ries AA, Maloney K, Wells JG, Greene KD, Griffin PM. A nationwide case-control study of *Escherichia coli* O157: H7 infection in the United States. *J Infect Dis.* 1998;177(4):962-6.
142. Pierard D, Crowcroft N, De Bock S, Potters D, Crabbe G, Van Loock F, Lauwers S. A case-control study of sporadic infection with O157 and non-O157 verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. *Epidemiol Infect.* 1999;122(03):359-65.
143. Gaulin C, Levac E, Ramsay D, Dion R, Ismail J, Gingras S, Lacroix C. *Escherichia coli* O157: H7 outbreak linked to raw milk cheese in Quebec, Canada: Use of exact probability calculation and case-case study approaches to foodborne outbreak investigation. *Journal of Food Protection.* 2012;75(5):812-8.
144. Kennedy M, Rabatsky-Ehr T, Thomas S, Lance-Parker S, Mohie-Boetani J, Smith K. Risk Factors for Sporadic *Escherichia coli* O157 Infections in the United States: Case-control Study in FoodNet Sites 1999-2000. *CDC.* 1999:1-24.
145. Belongia EA, Osterholm MT, Soler JT, Ammend DA, Braun JE, MacDonald KL. Transmission of *Escherichia coli* O157: H7 infection in Minnesota child day-care facilities. *JAMA.* 1993;269(7):883-8.
146. Frenzen PD, Drake A, Angulo FJ, Group EIPFW. Economic cost of illness due to *Escherichia coli* O157 infections in the United States. *Journal of Food Protection.* 2005;68(12):2623-30.
147. Morris G. Cost of *E. coli* o157:H7 illness in Canada. *FightEcolicom.* 2007:1-7.
148. Instituto Español de Comercio Exterior. Oficina Económica y Comercial de la Embajada de España en Guatemala. 2011. El mercado de los quesos en Guatemala. Notas sectoriales.
149. Instituto Colombiano de Bienestar Familiar. Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia, 2005.
150. Ross T, Sumner J. A simple, spreadsheet-based, food safety risk assessment tool. *Inter Food Microbiol.* 2002;77(1):39-53.
151. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Ministerio de la Protección Social de Colombia. Decreto 616 de 2006 "Por el cual se expide el

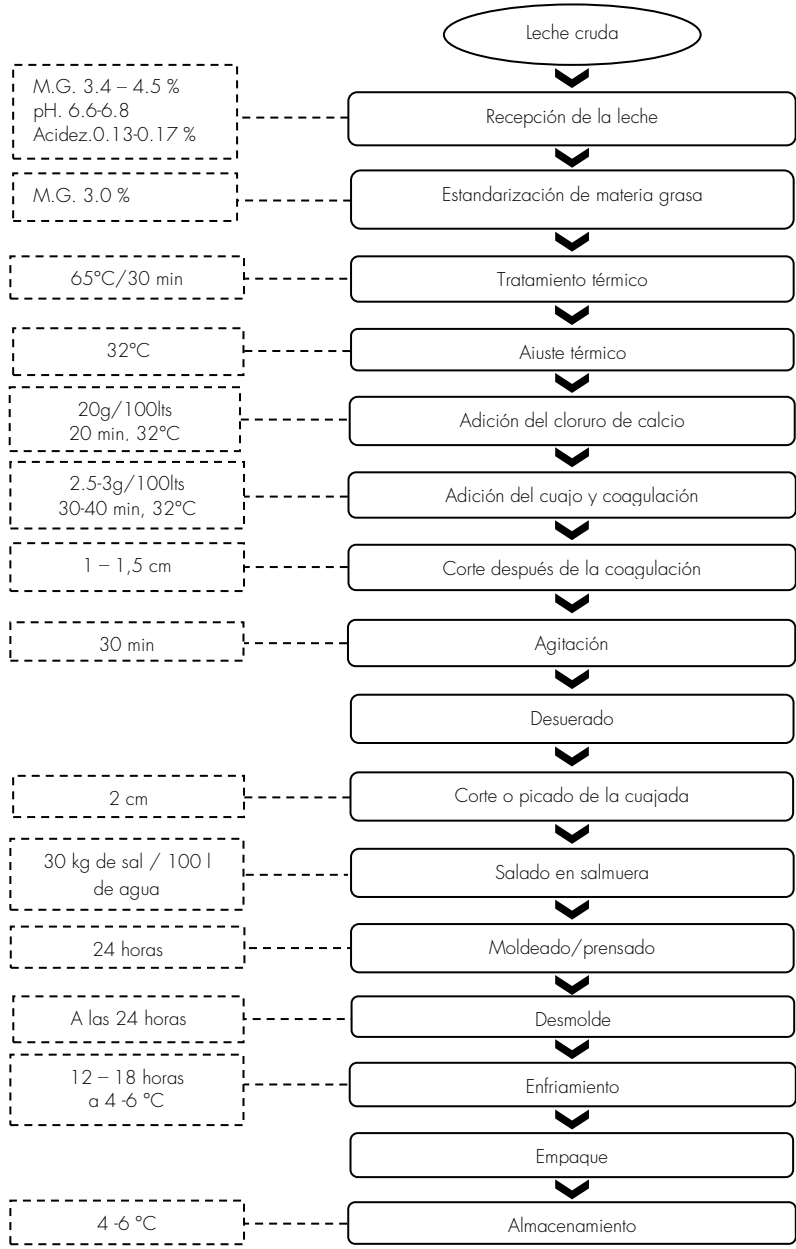
Reglamento Técnico sobre los requisitos que debe cumplir la leche para el consumo humano que se obtenga, procese, envase, transporte, comercialice, expendi, importe o exporte en el país’.

152. Instituto Colombia Agropecuario de Colombia. Resolución 3585 de 2008 “Por la cual se establece el sistema de inspección, evaluación y certificación oficial de la producción primaria de leche, de conformidad con lo dispuesto en el Capítulo II del Título I del Decreto 616 de 2006”.
153. El-Ziney M, Debevere J. The effect of reuterin on *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in milk and cottage cheese. *Journal of Food Protection*. 1998;61(10):1275-80.
154. Miller B, Sauer A, Moraru C. Inactivation of *Escherichia coli* in milk and concentrated milk using pulsed-light treatment. *J Dairy Sci*. 2012;95(10):5597-603.
155. Bravo E, Gómez L, Ramírez M, Juárez C, Flores F, Roldán E. Identificación de cepas de *Escherichia coli* enterotoxigénicas en diferentes ambientes. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*. 2007;27(3):70-4.
156. Ministerio de Salud de Colombia. Decreto 3075 de 1997 “Por el cual se reglamenta parcialmente la Ley 09 de 1979 y se dictan otras disposiciones”.

# ANEXOS

## Anexo A Diagramas de flujo queso campesino y costeño





## Anexo B. Etapas industriales del queso fresco

Pasteurización: Las condiciones mínimas de pasteurización son aquellas que tienen efectos bactericidas equivalentes al calentamiento de cada partícula a 72°C - 76°C por 15 segundos (pasteurización de flujo continuo) o 61°C a 63°C por 30 minutos (pasteurización discontinua) seguido de enfriamiento inmediato hasta temperatura de refrigeración (77). *E. coli* se ve inhibido por este proceso (104).

Calentamiento de la leche: Consiste en ajustar la temperatura óptima de acción de la enzima coagulante. En el caso del cuajo, está temperatura va de 32 – 35°C (85).

Adición del cloruro de calcio: Se pueden añadir 5 – 20 g de cloruro cálcico por cada 100 litros de leche (85).

Adición de fermentos lácticos: En quesos de cuajada acidificada como queso doble crema y quesillo, la leche debe inicialmente sufrir un proceso de fermentación durante 24 a 48 horas, hasta lograr una acidez de 0,75 % o un pH de 4,3 (88).

Coagulación de la leche: Se añade el cuajo en cantidades recomendadas. En cuajadas acidificadas el tiempo de cuajado es corto (10 a 15 minutos), el pH de la leche debe ser de 4,6 que corresponde al punto isoelectrico de la caseína. La temperatura recomendada debe ser mayor de 20°C porque con valores menores no se produce coagulación. En la coagulación enzimática el cuajado es lento a 20°C y no se forma a temperaturas superiores a 50°C. El pH óptimo es de 5,5; el tiempo requerido es de 30 a 40 minutos (85). El pH ácido no afecta el crecimiento de *E. coli*.

Desuerado: El desuerado es la eliminación del suero de la cuajada. De esta forma se extrae alrededor del 95% del agua inicial de la leche. El gel láctico formado en la fase de coagulación está compuesto por una compleja trama de canalículos a modo de esponja (68).



Corte de la cuajada: El corte de la cuajada favorece la exudación del suero, debe ser un troceado no muy fino porque los cortes pequeños (1 x 1 x 1 cm) forman partículas que retienen más suero (85).

Lavado: Con agua o salmuera, para facilitar un mejor desuerado (85).

Prensado: Determina el tipo de queso, su función es completar el desuerado y darle forma a la presentación del queso. Se puede hacer desde períodos de una a 48 horas. Se realiza en moldes metálicos con orificios que favorecen la exudación del suero (85).

En las etapas anteriores la contaminación con *E. coli* se puede presentar por manipuladores portadores, uso de agua contaminada y equipos contaminados (102, 155).

Salado: En el proceso se controla la concentración, la temperatura ( $7 - 20^{\circ}\text{C}$ ) y el tiempo. En quesos frescos no se debe superar la concentración de 1,25% (88), excepto para el queso costeño, cuya salinidad puede alcanzar el 3,5% (88). La concentración de sal utilizada en el queso costeño inhibe el crecimiento de *E. coli*.

Comercialización: Durante esta etapa, el producto debe conservar sus características de calidad, por lo cual se debe evitar su contaminación, la proliferación de microorganismos y el deterioro o daño del envase o embalaje (156). En esta etapa no se multiplica *E. coli* si el queso está refrigerado.

## Anexo C Factores de virulencia de ETEC

### Enterotoxinas ETEC

Se ha encontrado que la enterotoxina termolábil (TL) es muy similar a la toxina de cólera, fisiológica, estructural y antigénicamente y tiene un similar modo de acción. La masa molecular es de 84kDa y la sub estructura bimolecular de las dos toxinas son esencialmente idénticas con una subunidad (A) rodeada de 5 subunidades (B) idénticas de unión. Posterior a la colonización del intestino delgado por ETEC y la liberación de TL, la subunidad LTB enlaza irreversiblemente el gangliósido GM1 y la subunidad A activa la adenilato ciclasa que resulta en un incremento de AMPc, el cual estimula la secreción de cloruro, inhibiendo el cloruro de sodio neutro de las vellosidades. Cuando esta acción excede la capacidad absorptiva del intestino, se produce la diarrea (19).

ST es un péptido no antigénico de bajo peso molecular, constituido por 18-19 aminoácidos; se une de forma irreversible con la guanilato ciclasa, consiguiendo incremento de los niveles de GMPc. También está implicada en el control de la proliferación celular, por incremento de los niveles intracelulares de calcio. Igual que LT, incrementa la secreción de cloruros (19). Hay dos tipos de enterotoxina termoestable ST (STI y II) diferenciados por su solubilidad en metanol, pero sólo el ST I es tóxico para humanos.

Las proporciones relativas de ETEC produciendo LT, ST y LT/ST varían geográficamente, en pacientes con diarrea o portadores asintomáticos, aislándose entre el 0% y 20% en niños asintomáticos, y encontrándose 2 a 3 veces más frecuentemente en niños sintomáticos que asintomáticos (19).

### Factores de colonización ETEC

Se han reconocido más de 25 factores de colonización en ETEC procedentes de humanos (Harris, 2011) y muchos más han sido caracterizados . Los CFs son principalmente fimbrias o proteínas fimbriales, aunque algunos no tienen fimbrias en su estructura. Los CFs permiten a los organismos colonizar el intestino delgado, permitiendo la expresión de su(s) enterotoxina(s) en la proximidad del

epitelio intestinal. Una nomenclatura para los CF introducida en la década de los noventa los designa como antígenos de superficie de coli (CS).

No han sido detectados en un 30% a 40% de las cepas ETEC mundiales, por ausencia, pérdida de las propiedades CF en subcultivo de las cepas o carencia de herramientas para su detección (19).

## Plásmidos de virulencia ETEC

Los plásmidos bacterianos son replicones extracromosomales y autoreplicantes y son agentes clave de cambio de las poblaciones microbianas. De forma natural se presentan plásmidos capaces de promover la diseminación de varios tipos de características como resistencia a drogas, factores de virulencia y el metabolismo de sustancias extrañas y se ha encontrado que son esenciales para virulencia de *E. coli* ETEC y EHEC y pertenecen todos a la familia conocida como IncF (44).

Para las cepas ETEC, más importante que su cromosoma, son los plásmidos que poseen por codificar CFs, toxinas y otras adhesinas. Los CFs de ETEC humanos pueden ser codificados por plásmidos o cromosomas, por un operón policistrónico que incluye las subunidades fimbriales y las chaperonas; sin embargo, la mayoría de los CFs humanos son codificados por plásmidos, parecen ser adquiridos horizontalmente, incluyendo transposones y han sufrido una modificación evolutiva extensa, resultando en un buen número de variantes genéticas y actualmente muy pocos han sido secuenciados, ej pCoo (44).

## Anexo D. Factores de virulencia VTEC

Las cepas VTEC tienen genomas mucho mayores que otras cepas (5.5-5.9 Mb) y contienen un gran número de profagos y elementos integradores (IEs). Se han encontrado fagos lambdoides, IEs y plásmidos de virulencia que contienen genes similares de virulencia, pero distinta evolución histórica, indicando la adquisición independiente de estos elementos genéticos móviles (Ogura, 2009).

Los determinantes primarios de virulencia de cepas VTEC son codificados cromosomalmente, incluyendo variantes de toxina Shiga y el locus de destrucción del enterocito (lesión A/E). Sin embargo, los plásmidos tienen un papel importante en la patogénesis de la enfermedad causada por el serogrupo O157 ya que el plásmido pO157 se encuentra del 99% a 100% de los aislados clínicos humanos con la enfermedad, y su papel está definido claramente. Mientras que las cepas O157:H7 han sido clásicamente caracterizadas por su incapacidad de fermentar sorbitol, las cepas fermentadoras de este azúcar han emergido recientemente como agentes importantes de diarrea y síndrome urémico hemolítico, encontrándose un plásmido pSO157 de mayor tamaño que el pO157 (44).

Así, las EHEC se caracterizan por la producción de estas toxinas (Stx) incluyendo Stx1 y Stx2. Stx1 es casi idéntica a la toxina producida por *Shigella dysenteriae* tipo I; existen muchos subtipos de ambas toxinas y algunos subtipos de Stx2 parece estar implicados en enfermedades humanas. Stx2 se asocia más frecuentemente con secuelas graves, como el síndrome urémico hemolítico (SUH), que se caracteriza por insuficiencia renal aguda (4).

También hay otros factores de virulencia, incluyendo la enterohemolisina, pero el papel de estos factores en la patogénesis permanece indeterminado (4).

### Serotipos causantes de la enfermedad.

El serotipo que más frecuentemente se ha aislado en casos humanos es *E. coli* O157:H7; sin embargo, existen variaciones sobre la frecuencia de este serotipo en muestras humanas siendo en el Reino Unido de 93,7% y en Alemania de

30,5% (39), el porcentaje restante agrupa al menos unos doscientos serotipos no O157, ante las dificultades para aislar estos serotipos la prevalencia es incierta. La OMS ha identificado los serovares no O157, basados en datos epidemiológicos, siendo los más importantes O26, O45, O91; O103, O111, O121; O145 (53, 64). En la siguiente dirección se encuentra la lista actualizada de los serotipos no O157 reportados a la OMS <http://www.who.int/emc-documents/zoonoses/docs/whocsrgraph988.html/3surveillanceandfrequency.html>



[www.ins.gov.co](http://www.ins.gov.co)



**TODOS POR UN  
NUEVO PAÍS**  
PAZ EQUIDAD EDUCACIÓN

Dirección de Vigilancia y Análisis del Riesgo en Salud Pública  
Grupo de Evaluación de Riesgos en Inocuidad de Alimentos

Bogotá D. C. Colombia  
PBX: (57+1) 220 77 00 ext. 1333

Línea Gratuita Nacional 01 8000 113 400  
[contactenos@ins.gov.co](mailto:contactenos@ins.gov.co)