**Metodología PMA-qPCR para evaluar efectividad de dos intervenciones sobre hamburguesas de carne vacuna para inactivar *Escherichia coli* O157**

Rey MA (1,2), Mozgovoj MV (1,2), Vaudagna SR (1,2)

(1) Instituto Tecnología de Alimentos. CNIA. INTA. Buenos Aires, Argentina

(2) Instituto de Ciencia y Tecnología de los Sistemas Alimentarios Sustentables (ICyTeSAS) UEDD INTA-CONICET. Buenos Aires. Argentina

rey.angeles@inta.gob.ar

El PMA (*propidium monoazide*) es un colorante que se une al ADN de bacterias muertas con su membrana plasmática dañada. El complejo PMA-ADN así formado inhibe la acción de la polimerasa y entonces la señal obtenida por qPCR es atribuible solo a células viables remanentes post procesamiento. Las altas presiones hidrostáticas (APH) se utilizan como tecnología de preservación ya que permiten inactivar microorganismos patógenos y alteradores con mínimos efectos sobre el alimento. Con la misma finalidad también se ha propuesto la adición de ácidos orgánicos a la formulación de alimentos. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la metodología PMA-qPCR para cuantificar la eficacia del tratamiento de APH y de la adición de ácidos orgánicos sobre hamburguesas de carne vacuna para inactivar *E. coli* O157. Para esto, primero se realizó la validación de la qPCR para detectar un fragmento del gen *uidA*, definiendo límites de detección, de cuantificación, curva standard y eficiencia. Se optimizaron las concentraciones de PMA y la concentración máxima de bacterias muertas presentes en una muestra en las que no se observaba amplificación. Se verificó asimismo que el tratamiento con PMA no afectara las bacterias viables presentes en las muestras. Luego, se formularon hamburguesas de carne vacuna de 10 g cada una con un 4,45% de grasa, 2% de NaCl y 0,25% de tripolifosfato de sodio las que se inocularon con un cóctel de cinco cepas de *E. coli* O157 y se envasaron individualmente. Para los ensayos con APH se trataron hamburguesas por triplicado a 0,1 (control), 400 y 600 MPa. Para los ensayos usando ácidos orgánicos, las hamburguesas inoculadas fueron adicionadas de ácido láctico 1% (AL), ácido caprílico 0,04% (AC), ácido fumárico 1% (AF) y sus tres combinaciones (AL+AF, AL+AC, AF+AC). Se prepararon homogenatos de cada hamburguesa con agua peptona, de ellos se tomaron alícuotas para PMA-qPCR y para siembra en placa de Agar MacConkey y Agar Triptona Soja. Los valores de letalidad obtenidos por PMA-qPCR fueron de 1,65 y 2,61 log UFC/mL de homogenato de hamburguesa para los tratamientos a 400 MPa y 600 MPa, respectivamente. Para las hamburguesas tratadas con ácidos los valores de letalidad obtenidos por PMA-qPCR fueron de 0,9, 0,8 y 0,1 log UFC/g para AL, AF y AC respectivamente. Las combinaciones de AL+AC, AL+AF y AF+AC arrojaron valores de letalidad de 0,8, 1,06 y 0,9 log UFC/g respectivamente. Los resultados obtenidos por recuento en placa y por PMA-qPCR resultaron comparables entre sí. Se evidenció la eficacia del PMA para cuantificar sólo ADN de bacterias viables en las muestras de hamburguesas. Se concluye que, en las condiciones ensayadas, la metodología PMA-qPCR podría reemplazar a la técnica convencional de recuento en placa para cuantificar bacterias viables post tratamiento de inactivación en hamburguesas de carne vacuna. Asimismo, de los dos tratamientos evaluados, el más efectivo para inactivar el cóctel de cepas utilizado fue el de APH, comprobado tanto por PMA-qPCR como por recuento tradicional en placa.

Palabras Clave: Altas presiones hidrostáticas, ácidos orgánicos, *Escherichia coli* O157, PMA-qPCR