



Microorganismos indicadores

La calidad microbiológica de los alimentos es fundamental porque influye en su conservación y vida de anaquel y, sobre todo, porque los microorganismos presentes en ellos pueden ser causantes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA's).

La detección en el laboratorio de los microorganismos patógenos puede ser muy complicada, lenta y costosa para determinaciones rutinarias.

Por esas razones, las normas en materia de alimentos generalmente establecen la calidad microbiológica en términos de microorganismos indicadores. Estos son organismos (o grupos) que advierten oportunamente de un manejo inadecuado o contaminación, que incrementan el riesgo de presencia de microorganismos patógenos en alimentos. Además, su detección en el laboratorio es más sencilla, rápida y económica.

Los microorganismos indicadores permiten un enfoque de prevención de riesgos, puesto que advierten manejo inadecuado y/o contaminación.

Los principales microorganismos indicadores en alimentos son:

- Indicadores de condiciones de manejo o de eficiencia de proceso:
 - Mesófilos aerobios (o cuenta total)
 - Cuenta de hongos y levaduras
 - Cuenta de coliformes totales

- Indicadores de contaminación fecal:
 - Coliformes fecales
 - E coli
 - Enterococos
 - Cl. perfringens

La selección de indicadores en un alimento depende fundamentalmente de los riesgos implicados y de lo que se requiera saber para liberar, controlar o mejorar el alimento, manteniendo el enfoque preventivo.

Las características que tienen los indicadores mencionados y su utilidad se indican a continuación.



Mesófilos aerobios (o cuenta total)

Esta determinación indica el grado de contaminación de una muestra y las condiciones que han favorecido o reducido la carga microbiana. No se aplica a alimentos fermentados, y puede dar escasa información sobre el manejo del alimento cuando este es poco favorable para el desarrollo microbiano, por ejemplo, por su pH o aw,

Este grupo es un indicador importante en alimentos frescos, refrigerados y congelados, lácteos y alimentos listos para consumir.

Se lleva a cabo a partir de diluciones decimales de la muestra, las cuales se inoculan en placas vertidas de agar triptona glucosa extracto o agar cuenta estándar. Las placas se incuban en condiciones de aerobiosis, a 35° C, durante 24 a 48 horas.

Cuenta de hongos y levaduras

Los hongos y las levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, por lo cual son frecuentes en la microbiota habitual de muchos alimentos; se dispersan fácilmente por el aire y el polvo. Ciertas especies de hongos y levaduras son útiles en la elaboración de algunos alimentos; sin embargo, también pueden ser causantes de la descomposición.

Debido a su crecimiento lento y a su baja competitividad, los hongos y levaduras se manifiestan en los alimentos donde las condiciones no favorecen el crecimiento bacteriano, por ejemplo: pH ácido, baja humedad, alto contenido en sales o carbohidratos, baja temperatura de almacenamiento, presencia de antibióticos u otros antibacterianos.

Como grupo indicador son útiles para evidenciar grado general de contaminación en alimentos con estas características o cuando los mesófilos aerobios no son útiles, como en alimentos fermentados. También son indicadores del riesgo de desarrollo de hongos toxigénicos en alimentos como frutos secos, especias, cereales y otros granos, así como sus derivados.

Se lleva a cabo a partir de diluciones decimales de la muestra, las cuales se inoculan en placas vertidas de papa dextrosa agar (PDA) y agar extracto de malta (AEM) acidificados con ácido tartárico, para favorecer a los hongos y levaduras e inhibir bacterias. En algunos casos, se utilizan antibióticos para hacer más selectivo el medio de cultivo.



Cuenta de coliformes totales

Las bacterias del grupo coliforme se definen como: bacilos cortos, Gramnegativos, anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa a 35° C, en menos de 48 h, con producción de ácido y gas. Incluye los géneros: Escherichia, Enterobacter, Klebsiella y Citrobacter.

Durante mucho tiempo se consideraron evidencia de contaminación fecal, pero se ha demostrado que muchos de ellos pueden vivir e incluso crecer en el suelo, el agua y otros ambientes. Actualmente, se consideran un excelente indicador de la eficiencia de los procesos de limpieza y desinfección, así como de calidad sanitaria en agua, vegetales y diversos productos procesados.

Su determinación se basa generalmente en la capacidad de fermentar lactosa. Se pueden utilizar los métodos del número más probable (NMP o MPN, por sus siglas en inglés), el cual es un método estadístico en tres etapas y permite el hallazgo de cantidades muy bajas de coliformes. También se pueden detectar por cuenta en placa utilizando agar bilis-rojo violeta (ABRV o RVBA, por sus siglas en inglés), en el cual las colonias fermentadoras de lactosa causan el vire del indicador; pueden detectarse por filtración en membrana (Millipore) e incubación en medios adecuados, por métodos rápidos como Petrifilm y reacciones cromogénicas o fluorogénicas.

Coliformes fecales

Dentro del grupo coliforme, los de origen fecal son capaces de fermentar la lactosa también a 44,5° C; se consideran el indicador más adecuado de contaminación con heces de animales y humanos, por ejemplo, en pescados y mariscos, carnes, leche, entre otros. La determinación se hace a partir de la segunda etapa (confirmativa) del método de NMP, cultivando en caldo lactosado con incubación a 44,5° C. Generalmente se combinan las determinaciones, según se requiere.

E. coli

Se considera indicador de contaminación fecal reciente, humana o animal, en productos como agua embotellada, leche y jugos, alimentos infantiles y alimentos procesados, en general.

Se caracteriza por ser coliforme termotolerante (fermenta lactosa a 44,5° C) que produce indol a partir de triptofano y produce glucuronidasa, características que se



usan para su identificación en laboratorio, generalmente en la etapa final del NMP o de alguno de los otros métodos, incluyendo Petrifilm.

Enterococos

Los estreptococos de origen fecal o enterococos también son un indicador de contaminación fecal, debido a su abundancia en el tracto digestivo de animales y humanos. Aunque se encuentran en cantidades menores por un orden de magnitud, en comparación con *E. coli*, tienen algunas ventajas como su mayor supervivencia. Se consideran indicadores en alimentos procesados, como lácteos y cárnicos, en los cuales *E. coli* puede no sobrevivir.

Se determinan mediante métodos sencillos, generalmente con tecnologías de sustratos específicos.

Clostridium Perfringens

Esta bacteria grampositiva, esporulada, anaerobia, reductora de sulfitos también se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza y es habitante usual del tracto intestinal de muchos animales. Las esporas de *Clostridium perfringens* son muy resistentes a los desinfectantes, siempre están presentes en aguas negras, pero no se multiplican en el sedimento por lo cual se le considera un buen indicador cuando se sospecha de contaminación con protozoarios o virus, que generalmente no tienen relación con el hallazgo de coliformes o enterococos.

Son buenos indicadores en trabajos de seguimiento o para relacionarlos con contaminación fecal en peritajes; también se considera un indicador útil en aguas tropicales, donde la supervivencia de otros como *E. coli* y *Enterococcus* puede disminuir. La determinación de *Clostridium pefringens* como indicador se hace por cuenta en placas vertidas de agar triptona-sulfito-cicloserina (TSC) con yema de huevo, incubadas en anaerobiosis (Gas-Pack o similar).

A continuación, se describen algunos puntos importantes para hacer una mejor interpretación de los resultados de los análisis microbiológicos. Cabe aclarar que los conceptos microbiológicos incluidos en este material de apoyo son muy generales, dado que la microbiología reviste una gran complejidad, pero perfectamente pueden ser útiles para quien se inicia y maneja estos conceptos.

- ✓ Tipos de microorganismos: es necesario tener claridad respecto de la diversidad de microorganismos existentes y su efecto en los alimentos (aspecto abordado en páginas anteriores).



- Es recomendable, además, dentro de este mismo punto, investigar cuáles son los análisis que, de acuerdo con la naturaleza del alimento, son los que se requieren, para no incurrir en gastos innecesarios.
- ✓ Forma de crecimiento de los microorganismos: en términos muy generales, bajo condiciones ideales de nutrientes, humedad, acidez, temperatura y oxígeno, favorecen el crecimiento de los microorganismos.
- ✓ Interpretación de los números: dado que el crecimiento microbiológico es exponencial, cuando un resultado de laboratorio se grafica para compararlo con otro, este se hace en una escala logarítmica.

Referencias

Ashbolt, N.J., W.O.K. Grabow and M. Snozzi (2001). Indicators of microbial water quality. In Fewtrell, L. and Bartram, J. (ed.), *Water Quality: Guidelines,*

Standards and Health. Risk assessment and management for water-related infectious disease. IWA Publishing, London. Disponible a través de Internet en: www.who.int/entity/water_sanitation_health/dwq/iwachap13.pdf

Koburger J. & Martha E. (1984) Yeasts and Molds. In: *Compendium of methods for the microbiological examination of foods.* 2nd ed. Marvin S. (Ed.) APHA. USA. 197-199.

Pierson M. & Smoot L. (2001) **Indicator Microorganisms and Microbiological Criteria.** In: *Food Microbiology. Fundamentals and Frontiers.* 2nd ed. Doyle M. Beuchat L. & Montville T. (Eds.) ASM Press. USA. 71-87.

Secretaría de Salud. NOM-110-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. Norma Oficial Mexicana. México.

Secretaría de Salud. NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Bacterias Aerobias en Placa. Norma Oficial Mexicana. México.

Stevens, M., N. Ashbolt & D. Cunliffe. 2003. Recommendations to change the use of coliforms as Microbial indicators of drinking water quality. Department of Human Services, South Australia. Disponible a través de Internet en: http://www.nhmrc.gov.au/publications/synopses/_files/eh32.pdf