

## **Microorganismos indicadores.**

La presencia de microorganismos en los alimentos no significa necesariamente un peligro para el consumidor o una calidad inferior de estos productos. En realidad, si se exceptúa el reducido número de productos esterilizados, cada bocado de alimento contiene levaduras inocuas, mohos, bacterias y otros microorganismos. La mayor parte de los alimentos se convierten en potencialmente peligrosos para el consumidor sólo después de que han sido violados los principios de higiene, limpieza y desinfección. Si los alimentos han estado sometidos a condiciones que pudieran haber permitido la llegada a los mismos y/o la multiplicación de agentes infecciosos o toxigénicos, pueden constituirse en vehículo de transmisión de enfermedades., tales como la salmonelosis o la intoxicación estafilocócica. La puesta en evidencia de estos riesgos se basa en el examen de muestras de alimentos en busca de los propios agentes causales o de indicadores de una contaminación no admisible.

El examen microbiológico rutinario de los alimentos para detectar en ellos toda una serie numerosa de microorganismos patógenos y de sus toxinas no es practicable en la mayoría de los laboratorios. Sin embargo, es imperativo realizar los análisis microbiológicos de rutina correspondientes siempre que la información epidemiológica o de otro tipo de que se disponga sugiera o haga pensar en la presencia de un agente patógeno específico en un determinado alimento. El microbiólogo de los alimentos no dispone aún de técnicas fiables que le permitan poner de manifiesto la presencia en los alimentos de ciertos agentes de enfermedades transmitidas por esta vía, como ocurre con el virus de la hepatitis infecciosa. Para otras infecciones contraídas por el consumo de alimentos o por el agua de bebida, tales como la shigelosis, los métodos de laboratorio no ofrecen suficiente confianza, especialmente cuando los agentes patógenos están en número escaso o se encuentran distribuidos de modo desigual en alimentos que, por otra parte, contienen gran número de microorganismos saprofitos. Aun en los casos en los que se cuenta con métodos sensibles, algunos laboratorios pueden no disponer de las facilidades y capacidades técnicas precisas para llevar a cabo estas pruebas. Tales dificultades han determinado la amplia utilización de grupos (o especies) de microorganismos, cuya enumeración o recuento se realiza con mayor facilidad y cuya presencia en los alimentos (en determinado número) indica que estos productos estuvieron expuestos a condiciones que pudieran haber introducido organismos peligrosos y/o permitido la multiplicación de especies infecciosas o toxigénicas. Los grupos o especies utilizadas con estos fines se denominan microorganismos indicadores , y sirven para evaluar tanto la seguridad que ofrecen los alimentos en cuanto a microorganismos y sus toxinas, como su calidad microbiológica.

Los microorganismos indicadores se han utilizado con varios fines. Nos ocuparemos brevemente de las bases en las que se fundamenta su uso y de la interpretación de su significado en los diversos alimentos. En primer lugar, se discuten los indicadores de uso más universal, pero el orden en que son presentados no refleja necesariamente su valor relativo.

El principal objetivo de la utilización de bacterias como indicadores de prácticas no sanitarias es revelar defectos de tratamiento que llevan consigo un peligro potencial, peligro que no está necesariamente presente en la muestra particular examinada, pero que es probable pueda encontrarse en muestras paralelas. La metodología del examen de los alimentos para detectar bacterias enteropatógenas e indicadoras fue revisada por Lewis y Angelotti (1964) con la finalidad de ayudar al ICMSF en la preparación de la

primera edición de esta obra. Desde entonces se han publicado varios procedimientos para la estimación de los microorganismos indicadores. Aunque existe evidentemente una considerable semejanza entre los métodos recomendados por estas organizaciones hay también diferencias significativas en detalles de los procedimientos. Se están haciendo progresos importantes en la automatización de tales pruebas, progresos que, si llegan a culminar, reducirán el costo, mejorarán la reproductibilidad y, por la tanto, estimularán la adopción de procedimientos uniformes para el examen microbiológico de los alimentos.

Un estudio detallado del análisis microscópico de los alimentos está fuera de los objetivos de este libro. Sin embargo, tales análisis son realizados frecuentemente para detectar la presencia en los alimentos de suciedades, objetos extraños y microorganismos, que pueden indicar exposición del producto a condiciones no sanitarias. En otras palabras, la presencia de partículas de suciedad, partes de insectos, pelos, excretas de roedores o de gran número de microorganismos se consideran a menudo como presunta evidencia de que el alimento puede contener también contaminantes infecciosos o tóxicos. Métodos para el examen microscópico de leche, huevos productos derivados de cereales y de otros alimentos han sido descritos por Hausler (1972), AOAC (1975), Harris y Reynolds (1960) y otros.

## **RECUENTOS EN PLACA DE BACTERIAS**

Los recuentos de bacterias viables se basan comúnmente en el número de colonias que se desarrollan en placas de agar nutritivo que han sido previamente inoculadas con cantidades conocidas del alimento diluido e incubadas en condiciones ambientales predeterminadas. Tales recuentos se denominan, en algunos casos con evidente error, recuentos totales en placa, cuando en realidad únicamente pueden contarse aquellas bacterias que pueden crecer en las condiciones ambientales elegidas. En efecto, se obtiene una amplia variedad de condiciones cambiando la composición del medio sólido de cultivo, los gases del ambiente, el tiempo y la temperatura de incubación. Así, por ejemplo, la incubación a temperaturas entre 0 y 7°C favorece el crecimiento de las bacterias psicrófilas. Muchos de estos organismos no pueden crecer a 30-37 °C, temperaturas estas las más adecuadas para la incubación de los organismos mesófilos tanto patógenos como saprofitos. La incubación a temperaturas aún más elevadas (50-60°C) permite el desarrollo de organismos termófilos, pero inhibe a los mesófilos y a los psicrófilos. Pueden seleccionarse también otros grupos para hacer posible su enumeración o recuento añadiendo al agar nutritivo inhibidores selectivos, tales como cloruro sódico, agentes con actividad de superficie o colorantes, o modificando la composición de la atmósfera del incubador, por ejemplo eliminando el oxígeno. Cada tipo de recuento de gérmenes viables es potencialmente útil para fines específicos, pero el recuento de bacterias aerobias mesófilas es el más comúnmente utilizado para indicar la calidad sanitaria de los alimentos.

### *Recuentos en placa de bacterias aerobias mesófilas.*

La mayoría de los alimentos industrializados (excepto, por ejemplo, los productos fermentados) deben ser considerados como inadecuados para el consumo cuando contienen un gran número de microorganismos, aun cuando estos microorganismos no sean conocidos como patógenos y no hayan alterado de forma apreciable los caracteres organolépticos del alimento. Pueden, darse varias razones que justifican esta conducta.

1. Recuentos altos en alimentos estables a menudo indican materias primas contaminadas o tratamientos no satisfactorios desde el punto de vista sanitario, mientras que en los productos perecederos pueden indicar también condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento. La presencia de un número elevado de bacterias aerobias mesófilas que crecen bien a temperatura corporal o próxima a ella, significa que pueden haberse dado condiciones favorables o la multiplicación de los microorganismos patógenos de origen humano o animal.
2. Algunas cepas de bacterias mesófilas comunes, no generalmente consideradas como agentes de enfermedades transmitidas por los alimentos (por ejemplo, *Proteus* sp., enterococos y *Pseudomonas* mesófilas) han sido señaladas como causa de enfermedad cuando existía un número elevado de células viables en los alimentos. Sin embargo, los datos con que se cuenta acerca de la patogenicidad de estas cepas son conflictivos. No obstante, parece prudente evitar que los alimentos industrializados no fermentados den recuentos en placa elevados.
3. Todas las bacterias patógenas conocidas vehiculadas por los alimentos son mesófilas y en algunos casos contribuyen con su presencia a los recuentos en placa encontrados .
4. Cuando la alteración de los alimentos es debida al desarrollo en ellos de microorganismos, la causa más frecuente de alteración, deben esperarse en los mismos recuentos elevados. Los niveles de población precisos para producir modificaciones organolépticas ostensibles varían ampliamente según el tipo de alimento y, de modo particular, la clase de microorganismo. En el momento en que la descomposición puede ser detectada por el olor, el gusto o el aspecto, la mayoría de los alimentos contienen más de  $10^6$  microorganismos por gramo (revisado por Elliott y Michener, 1961). Algunos alimentos pueden ya ser inaceptables cuando contienen  $10^7$  bacterias por gramo, pero un número reducido de ellos se consumen aun cuando la población bacteriana alcance los  $10^8$ /gramo. Los productos fermentados, tales como el queso, alcanzan normalmente poblaciones microbianas del orden de  $10^9$ /gramo, mientras que este nivel de microorganismos se correlaciona con una alteración muy avanzada en otros alimentos no fermentados.

La alteración de los alimentos refrigerados es producida frecuentemente por bacterias que no pueden crecer a temperaturas de  $30^{\circ}\text{C}$  y superiores. Así, los recuentos en placa de gérmenes aerobios realizados en alimentos alterados mientras se mantengan refrigerados pueden alcanzar cifras uno o más ciclos logarítmicos superiores cuando la incubación se hace a  $5-28^{\circ}\text{C}$  que cuando se lleva a cabo a  $35-37^{\circ}\text{C}$ .

Con respecto a 1 y 2, las bacterias aerobias mesófilas, como grupo ( es decir, las que crecen en placa de agar a  $30-37^{\circ}\text{C}$ ), pueden ser consideradas generalmente como organismos indicadores, aunque representan una mediada mucho menos precisa y fiables del peligro de intoxicación alimentaria que otros indicadores de los que hablaremos más adelante. Los recuentos elevados de bacterias mesófilas, por ejemplo en productos crudos o no tratados, a menudo están constituidos por la microflora normal o quizás indican una alteración incipiente del alimento y no un peligro potencial para la salud del consumidor.

## Recuentos anaerobios

La práctica de utilizar los recuentos de aerobios en lugar de los de anaerobios surgió posiblemente porque era mucho más fácil incubar los cultivos en aerobiosis. Sistemas recientemente desarrollados han facilitado y mejorado el recuento de bacterias anaerobias mediante el uso de cámaras de anaerobios fabricadas con plástico transparente, de placas de agar pre-reducido y de agar profundo en bolsas de plástico impermeable. Los recuentos de anaerobios incluyen, por lo general, no solamente las bacterias anaerobias obligadas sino también microorganismos anaerobios facultativos pertenecientes a las *Enterobacteriaceae*, estreptococos fecales y estafilococos, al menos que se utilicen medios selectivos. Los recuentos de gérmenes anaerobios presentan algunas ventajas, aunque probablemente nunca sustituirán a los recuentos de aerobios en el análisis diario de los alimentos. Los recuentos de bacterias anaerobias mesófilas son útiles como indicadores de la existencia de condiciones favorables para la multiplicación de los organismos anaerobios productores de intoxicaciones alimentarias, tales como *Clostridium perfringens*, especialmente en productos cárnicos, y son necesarios cuando se hace el análisis de alimentos en busca de esta especie en la investigación de brotes de intoxicaciones alimentarias.

## Ventajas y limitaciones de los recuentos de mesófilos

En el comercio internacional, el importador de alimentos carece a menudo de información sobre las condiciones de sanitización o del tiempo y temperatura relativos a la producción y al transporte. Por supuesto que deberá ser estimulado a obtener la información adecuada, pero cuando ésta falta un recuento de la flora aerobia mesófila puede constituir una referencia valiosa. Si éste es alto, o si varía considerablemente en las muestras de partidas diferentes o dentro de una misma partida, ello quiere decir que con toda probabilidad el control microbiológico fue inadecuado durante la industrialización o tratamiento de los alimentos, la conservación o el transporte. El fabricante de alimentos, por su parte, puede utilizar tales recuentos para evaluar en su fábrica la eficacia de la sanitización a lo largo del proceso de industrialización. A este fin, se tomarán muestras de los ingredientes del alimento compuesto a medida que éstos son añadidos, del producto antes y después de aquellas operaciones de industrialización o tratamiento que puedan añadir o destruir microorganismos, y del producto antes, durante y después de los periodos de retraso que pudieran permitir el crecimiento superficial o profundo de éstos. Los resultados pueden mostrar que una o dos operaciones determinadas, entre varias, son principalmente responsables de la contaminación del producto terminado. Esta información permite una concentración de esfuerzos dirigidos a mejorar la limpieza y desinfección en el área en la que se desarrollan las operaciones responsables, evitando así una pérdida de tiempo, esfuerzo y dinero en otras fases u operaciones menos importantes.

Es preciso, advertir, sin embargo, que el recuento de la flora aerobia mesófila tiene un valor limitado en algunos casos:

1. En determinados tipos de alimentos (por ejemplo, embutidos fermentados, col ácida, queso y otros derivados lácteos) es natural y deseable una gran multiplicación bacteriana, con una «fermentación» o «maduración» paralela del alimento. En estos productos, un recuento elevado, como tal, carece prácticamente de significado, ya que los microorganismos improprios no pueden diferenciarse generalmente de la microflora propia o normal (L. E. Barber y Deibel, 1972).

2. En los alimentos tratados por el calor, la población de microorganismos viables suele ser muy baja, aunque un examen microscópico de estos productos puede a veces poner de manifiesto la presencia de microorganismos muertos, cuyo número indica que la materia prima estaba muy contaminada.
3. Del mismo modo, en los alimentos deshidratados y en los congelados, siempre se obtienen recuentos de bacterias viables más bajos. Así, un recuento en placa puede no reflejar la calidad bacteriológica de la materia prima antes de los procesos o tratamientos correspondientes y, por ello, es necesario llevar a cabo un examen microscópico directo para comprobar si, efectivamente, en un principio existían o no abundantes gérmenes.
4. Los recuentos de bacterias mesófilas son de escaso valor a la hora de predecir la vida útil de un alimento conservado en refrigeración, ya que muchos microorganismos mesófilos no crecen a temperaturas por debajo de los 5°C. Para esta finalidad, es preferible el recuento de bacterias viables psicrotóxicas llevado a cabo generalmente a una temperatura de incubación entre 0 y 5°C o 7°C durante 10 días. Algunas bacterias mesófilas crecen, en efecto, entre 5 y 15°C, pero pueden ser detectadas con mayor rapidez incubando las placas a temperaturas más elevadas.

### **BACTERIAS ENTÉRICAS INDICADORAS.**

*Escherichia coli*, *los coliformes (grupo coliaerogenes)* y *las Enterobacteriaceae*

*Escherichia coli* es un germen cuyo hábitat natural es el tracto entérico del hombre y de los animales. Por ello, la presencia de este microorganismo en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal. *E. coli* es el indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos en el agua, en los moluscos, en los productos lácteos y en otros alimentos. La enumeración de *E. coli* en el agua constituye una medida de la cuantía de la polución, mientras que los niveles detectados en los alimentos pueden estar influenciados por otros factores, tales como la multiplicación del microorganismo, su muerte o inactivación o su adherencia a las partículas del alimento. Con todo, cifras sustanciales de *E. coli* en un alimento sugieren una falta general de limpieza en el manejo del mismo y un almacenamiento inadecuado. La presencia de *E. coli* en un alimento no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente. En otras palabras, la presencia de *E. coli* en los alimentos no guarda siempre una estrecha correlación con la presencia de salmonelas o de otros microorganismos patógenos.

Existe abundante bibliografía sobre los valores de *E. coli* de los coliformes y de la familia completa de las *Enterobacteriaceae* como indicadores de contaminación de origen fecal. Una práctica común es utilizar las pruebas para coliformes, que incluyen *E. coli*, en los ensayos de “screening” o preliminares. Si de estas pruebas iniciales se deduce la posibilidad de contaminación fecal, los coliformes u otras *Enterobacteriaceae* se someten a posteriores estudios para determinar si entre ellos está presente *E. coli*.

TABLA 1

Diferencias entre los géneros de la familia Enterobacteriaceae en relación con su origen fecal o no fecal, su detección y su enteropatogenicidad por el hombre.

	Género	Predominantemente de origen fecal	Generalmente detectado en las “pruebas para coliformes”	Típicamente enteropatógeno para el hombre
I	<i>Escherichia</i>	Sí	Sí	No <sup>f</sup>
II	<i>Edwardsiella</i>	Sí	No	No <sup>b</sup>
III	<i>Citrobacter</i>	No <sup>b</sup>	Sí <sup>c</sup>	No
IV	<i>Salmonella</i>	Sí	No	Sí
V	<i>Shigella</i>	Sí	No	Sí
VI	<i>Klebsiella</i>	No <sup>b</sup>	Sí	No <sup>b</sup>
VII	<i>Enterobacter</i>	No <sup>b</sup>	Sí	No
VIII	<i>Hafnia</i>	No <sup>b</sup>	No <sup>d</sup>	No
IX	<i>Serratia</i>	Sí	No	No
X	<i>Proteus</i>	No <sup>b</sup>	No	No <sup>b</sup>
XI	<i>Yersinia</i>	Sí	No	No <sup>b</sup>
XII	<i>Erwinia</i>	No	No <sup>e</sup>	No

A Basado en el Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th ed. (Buchanan and Gibbons, 1974; ver también Mossel, 1975).

B Algunas cepas habitan en el tracto intestinal, pero proliferan también en otros ambientes naturales.

C Excepto cepas fermentadoras lentas de la lactosa.

D Excepto cepas ocasionales.

E Excepto cepas que se han adaptado a un crecimiento rápido a temperaturas próximas a 37°C.

F Algunos serotipos contienen cepas enteropatógenas.

El término habitual *coliformes* comprende *E. coli* y diversas especies pertenecientes a otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae*. Prácticamente hablando, los “coliformes” son los microorganismos que se detectan por las pruebas para “coliformes”, tales como las que se describen en la Parte II de este libro. La Tabla 1 resume los géneros detectados y no detectados en las pruebas para coliformes, sus hábitats fecales o no fecales y su enteropatogenicidad potencial para el hombre.

El término *coliformes fecales* ha surgido como un intento de encontrar métodos rápidos y fiables para establecer la presencia de *E. coli* y variantes estrechamente relacionados sin necesidad de purificar los cultivos obtenidos en las pruebas para coliformes o de aplicar las relativamente costosas pruebas confirmatorias. Los “coliformes fecales” comprenden un grupo de microorganismos seleccionados por incubación de los inóculos procedentes de un caldo de enriquecimiento de coliformes a temperaturas superiores a las normales (44-45,5°C, dependiendo del método, véase Parte II). Tales cultivos de enriquecimiento contienen por lo general un alto porcentaje de *E. coli* tipos I y II y son, por ello, muy indicativos de una probable contaminación de origen fecal del alimento.

Varios laboratorios en todo el mundo han introducido el análisis de los alimentos que han recibido un tratamiento para asegurar su inocuidad por una prueba que determina la familia entera de las *Enterobacteriaceae* (es decir, los tipos lactosa + y lactosa -). Esta prueba es utilizada por las siguientes razones.

1. Las bacterias “coliformes” o del grupo coli-aerogenes constituyen un grupo mal definido taxonómicamente. En efecto, el recuento de coliformes puede incluir toda una serie de bacterias diferentes, según la muestra, el medio, la temperatura de incubación y los criterios utilizados para la lectura de

resultados. Esta variabilidad puede ser la causa de discrepancias entre los datos obtenidos en laboratorios diferentes.

2. Una prueba sólo para las bacterias lactosa positivas puede llevar a resultados falsamente seguros en los casos en los que predominan las lactosa negativas. Esto es válido no únicamente para las *Salmonella* predominantemente lactosa negativas, sino también para otras *Enterobacteriaceae* patógenas. Una buena ilustración de este hecho la constituye el reciente brote de gastroenteritis producida por queso blando-madurado francés, contaminado por la cepa enteropatógena de *E. coli* tipo O 124. Este mutante fermenta la lactosa lentamente. Los recuentos de bacterias del grupo coli-aerogenes en el queso implicado no excedían de  $10^3$  por gramo, cifra que podría considerarse en la región intermedia de aceptación. Por el contrario, los recuentos de *Enterobacteriaceae* eran del orden de  $10^7$  por gramo, cifra esta que hubiese determinado sin duda alguna el rechazo del producto.
3. *Salmonella* puede ser en los alimentos más resistente frente a las influencias desfavorables que *E. coli* u otros coliformes. De nuevo, la ausencia de estos últimos microorganismos puede llevar a conclusiones de seguridad falsas.

En los alimentos naturales y en las superficies de los utensilios y equipo de las industrias de alimentos, varios tipos de *Enterobacteriaceae* permanecen más tiempo que *E. coli*. Las especies de *Erwinia* y *Serratia*, que se incluyen en los recuentos de *Enterobacteriaceae* y en cierto grado en las enumeraciones de coliformes, están asociadas con los vegetales y no indican contaminación fecal. De aquí que *E. coli* sea el único microorganismo índice válido en el análisis de los alimentos vegetales frescos. En los alimentos frescos o naturales de origen animal, la mayor parte de las *Enterobacteriaceae* proceden de contaminaciones de origen fecal y su presencia en gran número puede indicar una manipulación no higiénica y/o un almacenamiento inadecuado. En muchos casos, los recuentos de *Enterobacteriaceae* no guardan relación con la cuantía de la contaminación original a partir de fuentes fecales, debido a que las *Enterobacteriaceae* pueden multiplicarse en algunos alimentos mientras que tienden a disminuir en otros y en el agua.

En los alimentos que han recibido un tratamiento para garantizar su sanidad, la presencia de niveles considerables de *Enterobacteriaceae* o de coliformes indica: (1) tratamiento inadecuado y/o contaminación posterior al tratamiento; más frecuentemente a partir de materias primas, equipos sucios o manejo no higiénico, (2) multiplicación microbiana que pudiera haber permitido el crecimiento de toda la serie de microorganismos patógenos y toxigénicos. Con todo lo valiosa que esta información pueda ser, nunca deberá interpretarse como indicación cierta de que ha tenido lugar una contaminación de origen fecal de tales alimentos.

Una pregunta siempre apremiante es la de si un resultado negativo en cualquiera de las pruebas mencionadas asegura la ausencia de patógenos entéricos. Ello depende naturalmente de parámetros tales como: (1) el número y la magnitud de las alícuotas examinadas, (2) la sensibilidad del método y (3) el número de *Enterobacteriaceae*, coliformes o *E. coli* y de microorganismos patógenos. Se han publicado varios trabajos sobre la relación entre la presencia de *Enterobacteriaceae* en alimentos y el riesgo de la existencia simultánea de salmonelas.

### *Los enterococos*

Se ha descrito mucho sobre la adecuación de los enterococos, y sobre la del más amplio grupo D de Lancefield de estreptococos, como indicadores de contaminación

fecal. El grupo D incluye, además de los enterococos (*Strep. faecalis* y *Strep. faecium*), estreptococos menos resistentes al calor, tales como *Strep. bovis* y *Strep. equinus*. Al grupo completo se le designa con cierta imprecisión con el nombre de “estreptococos fecales”.

Aunque normalmente presentes en las heces de mamíferos, estos cocos se encuentran también tan ampliamente distribuidos en el medio ambiente que su significado como indicadores de contaminación fecal está seriamente restringido. Su uso como indicadores deberá limitarse a situaciones en las que se sepa que son manifestaciones de polución fecal, por ejemplo en el agua de piscinas. En alimentos industrializados que han sido calentados, curados, congelados, deshidratados o tratados de tal modo que la microflora original muera gradualmente, existe una escasa correlación entre la presencia de enterococos y de *E. coli*, coliformes o *Enterobacteriaceae*. Por el contrario, en alimentos crudos no industrializados, la correlación entre los niveles de enterococos y de coliformes puede ser mejor. La asociación entre estreptococos del grupo D y coliformes en ciertos alimentos naturales ha sido señalada por Buttiaux (1959) y por Buttiaux y Mossel (1961).

A pesar de las limitaciones y de las incertidumbres apuntadas, la presencia de gran número de enterococos en los alimentos, excepto en los fermentados por cepas específicas de estos microorganismos, implica prácticas inadecuadas de higiene o bien exposición del alimento a condiciones que pudieran haber permitido la multiplicación extensiva de bacterias no deseables.

Los enterococos pueden tener un papel significativo como indicadores de prácticas de limpieza y desinfección deficientes en las industrias de alimentos, debido a su gran resistencia a la desecación, a las temperaturas elevadas y bajas y a los detergentes y desinfectantes. Precisamente por su resistencia a la congelación, los enterococos son los indicadores preferidos de prácticas de sanitización deficientes en las industrias de congelación de alimentos. Y por su resistencia al calor, pueden sobrevivir a los tratamientos térmicos que permitirían también la supervivencia de virus en algunos alimentos pasteurizados a deshidratados.

Esta elevada resistencia es, al mismo tiempo, la razón de la falta de validez de estos cocos como indicadores generales de contaminación fecal. Los enterococos pueden resistir de tal modo condiciones adversas que su presencia guarda escasa relación con el peligro de la existencia simultánea de microorganismos patógenos, tales como *Salmonella* y *Shigella*, mucho menos resistentes, gérmenes estos últimos que aunque hubieran llegado a los alimentos o a las superficies juntamente con los enterococos, probablemente no habrían sobrevivido.

La Comisión no ofrece límites microbiológicos recomendados para los enterococos. Para interpretar el significado de niveles concretos de estos microorganismos en un determinado alimento se precisa contar con la adecuada experiencia. En este contexto, los estreptococos fecales son discutidos por Niven (1963), Lewis y Angelotti (1964) y Hartman y col. (1964). E. M. Foster (1973) indica que pequeños números de estreptococos fecales en los alimentos carecen de significado, excepto cuando se trata de productos industrializados que han sido sometidos a un riguroso tratamiento bactericida (por ejemplo, alimentos precocinados congelados). Carecen igualmente de significado cifras elevadas en productos en cuya fermentación intervienen normalmente estos microorganismos. Este hecho se da en alimentos tales como embutidos fermentados y clara de huevo, sin evidencia de peligro para la salud. No obstante, Sedova (1970) ha señalado que *Strep. faecalis* var. *liquefaciens* puede producir enfermedad cuando es ingerido por el hombre. Véase también las discusiones sobre los enterococos que comienzan en las páginas 41 y 151.

### *Otros microorganismos indicadores*

Entre otros microorganismos que se usan a veces como indicadores podemos mencionar: (1) *Staphylococcus aureus*, para la contaminación procedente de vías orales, nasales, piel y otros orígenes, (2) bacterias mesófilas esporuladas como indicadores de un tratamiento térmico insuficiente de los alimentos enlatados o de un almacenamiento prolongando sin refrigeración de los alimentos cocinados, tales como la carne y el arroz, y (3) los enterovirus formadores de placas en cultivo de tejidos como indicadores de otros virus cuya detección en los alimentos es más difícil si no imposible. Los indicadores mencionados no se utilizan de modo general, posiblemente porque cada uno de ellos tiene determinados inconvenientes.

1. *Estafilococos*. La presencia de *Staphylococcus aureus* en un alimento se interpreta, por lo general, como indicativo de contaminación a partir de la piel, la boca y las fosas nasales de los manipuladores de alimentos, si bien el material y equipo sucios y las materias primas de origen animal pueden ser asimismo la fuente de la contaminación. Cuando se encuentra un gran número de estafilococos en un alimento, ello significa, por lo general, que las prácticas de limpieza y desinfección y el control de la temperatura no han sido, en algún lugar, adecuados. Ingran (1960) concedía significado a la presencia de gran número de *Staphylococcus*, por ejemplo en carnes curadas, debido a que, cuando los recuentos de este grupo de gérmenes son altos, se han dado circunstancias determinantes de que las cepas de *S. aureus* enterotoxigénicas pudieran encontrarse en número peligroso.

2. *Bacterias mesófilas esporuladas*. La presencia de bacilos mesófilos en alimentos enlatados indica que o bien el envase no se cerró herméticamente o que el tratamiento térmico fue insuficiente para destruir los esporos. Existe la posibilidad de que en tales circunstancias pudiera estar presente también *Clostridium botulinum*. Si fuera así, pudiera haber tenido lugar el crecimiento del germen y la producción de toxina en los alimentos enlatados de acidez escasa (pH 4,6 o más elevado), tales como sopa de pollo y champiñones.

Cuando se encuentran bacterias esporuladas en los alimentos refrigerados y en los deshidratados en número anormalmente elevado, o en proporción excesivamente grande de la población total, existe el riesgo de que entre ellas puedan encontrarse *C. perfringens*, *C. botulinum* o *Bacillus cereus*. Estos microorganismos representan un peligro ya en el alimento tal como ha sido fabricado o en sus usos futuros.

3. *Virus*. La utilidad de los virus como indicadores de la contaminación de los alimentos es problemática, debido a las dificultades técnicas en la demostración de su presencia. El diagnóstico de las enfermedades víricas transmitidas por los alimentos, tales como la hepatitis infecciosa y la poliomielitis se basa, por lo general en las investigaciones epidemiológicas “a posteriori” y no en el análisis de laboratorio del alimento implicado. No obstante, Kostenbader y Cliver (1973) han propuesto pruebas para enterovirus formadores de placas. Parecería que tales pruebas son especialmente útiles en situaciones en las que persisten los virus contaminantes aún cuando las pruebas para los indicadores bacterianos comunes den resultados negativos.

## **LEVADURAS Y MOHOS**

Las levaduras y los mohos crecen más lentamente que las bacterias en los alimentos no ácidos que conservan humedad y por ello pocas veces determinan problemas en tales alimentos. Sin embargo, en los alimentos ácidos y en los de baja

actividad de agua, crecen con mayor rapidez que las bacterias, determinando por ello importantes pérdidas por alteración de frutas frescas y jugos, vegetales, quesos, productos derivados de los cereales, alimentos salazonados y encurtidos, así como en los alimentos congelados y en los deshidratados, cuyo almacenamiento se realiza en condiciones inadecuadas. Además, existe el peligro potencial de producción de micotoxinas por parte de los mohos. Para eliminar o reducir tales problemas, los manipuladores de alimentos susceptibles de enmohecimiento deberán: (1) reducir la carga de esporas, observando unas buenas prácticas higiénicas, (2) reducir los tiempos de almacenamiento y vender los alimentos lo antes posible, (3) almacenar los alimentos congelados a temperaturas inferiores a los  $-12^{\circ}\text{C}$ , (4) eliminar o reducir el contacto con el aire (mediante envasado o por otros procedimientos), (5) calentar el alimento en su envase final para destruir las células vegetativas y las esporas, (6) añadir ácidos para retardar el crecimiento o (7) añadir conservadores químicos, tales como los sorbatos y benzoatos.

Ni el hombre ni los animales deben consumir alimentos visiblemente enmohecidos (véase pág. 71), excepto, por supuesto, los quesos tales como Roquefort o Camembert y ciertos salamis que deben sus sabores especiales a algunos mohos.

Las levaduras crecen más rápidamente que los mohos, pero con frecuencia juntos a ellos. Mientras que los mohos son casi siempre aerobios estrictos, las levaduras generalmente crecen tanto en presencia como en ausencia de oxígeno, aunque con mayor rapidez y hasta poblaciones más elevadas en presencia de este gas. La fermentación es completamente un proceso anaeróbico. Las bebidas fermentadas están fuera del marco de esta publicación.

En los alimentos frescos y en los congelados, pueden encontrarse números reducidos de esporas y células vegetativas de levaduras, pero su presencia en estos alimentos es de escaso significado. Sólo cuando el alimento contiene cifras elevadas de levaduras o mohos visibles el consumidor se dará cuenta de la alteración. La alteración por levaduras no constituye un peligro para la salud.

