

ANÁLISIS DE ENTEROBACTERIAS

Cada vez es más frecuente recurrir a la determinación de microorganismos indicadores para determinar la inocuidad de un alimento. Estos indicadores deben cumplir una serie de requisitos:

- fácil y rápido de detectar
- fácilmente diferenciable de otros representantes de la flora de un alimento
- tener antecedentes de asociación con el patógeno del que es indicador
- ser un microorganismos con cifras, que en teoría coincidan con las del patógeno a indicar
- tener condiciones y velocidad de crecimiento semejantes a las del patógeno
- tener una tasa de muerte paralela a del patógeno y que persista algún tiempo más que este
- no existir en alimentos exentos del patógeno, salvo en cantidades mínimas

Actualmente se reconocen 29 géneros de enterobacterias, que incluyen más de 100 especies diferentes. El 99% de los aislamientos clínicos pertenecen únicamente a 23 especies.

Atendiendo a su poder patógeno se dividen en dos grupos:

- **Enterobacterias patógenas:** *Escherichia coli* enteropatógeno, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia*
- **Enterobacterias oportunistas:** *E. coli*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus*, *Hafnia*, *Edwardsiella*, *Providencia*, *Morganella*

El recuento total de enterobacterias se utiliza como indicador de contaminación fecal, y como uno de los indicadores de Buenas Prácticas de Fabricación. Se utiliza como indicador de la calidad microbiológica de alimentos procesados, y recuentos elevados señalan una elaboración inadecuada o una contaminación posterior, o ambas cosas a la vez; siempre implica un riesgo higiénico-sanitario.

Métodos normalizados

ISO 7402 Directiva general para el recuento, sin revivificación, de las Enterobacteriaceae. Técnica del NMP y método por recuento de colonias

Esta directiva expone dos métodos para el recuento de enterobacterias. El primero de ellos se recomienda utilizar en muestras que se sospecha que presentan contaminación baja (1 – 100 por mililitro o gramo de muestra). Para ello se siembran en tres tubos de medio de doble concentración, una cantidad determinada de la muestra problema si la muestra es líquida o una cantidad determinada de la suspensión madre en el caso de los otros productos. Después y en las mismas condiciones, se siembran tres tubos con medio de concentración simple con la primera dilución decimal obtenida a partir de la muestra problema o de la suspensión madre. Los tubos se incuban a 35° C ó 37° C (según acuerdo) durante 24 horas. A partir del número de tubos positivos confirmados se calcula el número más probable de Enterobacteriaceae por mililitro o por gramo de muestra de ensayo mediante la tabla NMP.

El segundo método se basa en la siembra en profundidad con el medio agar biliado cristal violeta glucosa, en placas de Petri, con una cantidad determinada de la muestra a examinar, si el producto es líquido o una cantidad determinada de la suspensión madre en el caso de los otros productos. En las mismas condiciones siembra de diluciones decimales obtenidas a partir de la muestra problema o de la suspensión madre. Incubación de las placas a 35° C ó 37° C durante 24 horas +/- 2 horas.

Cálculo del número de Enterobacteriaceae por mililitro o por gramo de muestra, a partir del número de colonias características confirmadas obtenidas en las placas de Petri

NF V 08-054 Método de rutina para la enumeración de Enterobacteriaceae mediante el recuento de colonia.

Este método se basa en la siembra en profundidad con el medio agar biliado cristal violeta glucosa, en una placa de Petri, con una cantidad determinada de la muestra a examinar, si el producto es líquido o una cantidad determinada de la suspensión madre en el caso de los otros productos. Se recubre la placa con una segunda capa del mismo medio. En las mismas condiciones siembra de diluciones decimales obtenidas a partir de la muestra problema o de la suspensión madre. Incubación de las placas a 30° C durante 24 horas +/- 2 horas. Cálculo del número de Enterobacteriaceae por mililitro o por gramo de muestra, a partir del número de colonias características confirmadas obtenidas en las placas de Petri.