

Bacterias como indicadores de contaminación

Departamento técnico de Interciencia

Las bacterias pueden ser utilizadas para valorar la calidad de los alimentos, sedimentos y aguas destinadas al consumo humano, la agricultura, la industria y la recreación. No existe un indicador universal, por lo que se debe seleccionar el más apropiado para la situación específica en estudio. Los microorganismos indicadores son aquellos que tienen un comportamiento similar a los patógenos en cuanto a su concentración en agua y reacción frente a los factores ambientales, pero son más fáciles, rápidos y económicos de identificar.

La contaminación de los alimentos y las superficies es una problemática que se presenta principalmente en la industria alimentaria. Para determinar la calidad microbiológica de los productos, se utilizan las bacterias indicadoras de contaminación fecal. Entre las más utilizadas se encuentran los coliformes totales y termotolerantes, aunque la presencia de *Escherichia coli* se encuentra más asociada al riesgo sanitario debido a su correlación con la materia fecal.

Escherichia coli forma parte de la flora anaerobia facultativa del tracto intestinal del hombre y los animales, por lo cual su presencia en alimentos y aguas está catalogada como indicador de contaminación fecal. Esta bacteria presenta dos antígenos estructurales en su superficie, útiles para su tipificación:

- **Serogrupo - Antígeno somático (O):** determinado por la porción polisacárida del lipopolisacárido (LPS) presente en la pared bacteriana
- **Serotipo - Antígeno flagelar (H):** de naturaleza proteica y que corresponde a flagelos que otorgan movilidad a la bacteria



La caracterización es fundamental, ya que algunas combinaciones de serogrupos y serotipos están directamente relacionadas con los diferentes cuadros patológicos y, por lo tanto, constituye una herramienta epidemiológica para el estudio de los brotes diarreicos en humanos. Las cepas se clasifican en seis categorías según su patogenicidad, manifestaciones clínicas y características epidemiológicas. Las *E. coli* productoras de toxina Shiga (STEC) constituyen un patógeno emergente asociado a enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), cuyo prototipo es la STEC O157:H7. Sin embargo, el grupo bacteriano está conformado por más de 250 serotipos, de los cuales la mitad están asociados a enfermedad humana. Las cepas potencialmente patógenas deben poder adherirse a la mucosa intestinal humana y secretar las toxinas Shiga.

Según el Artículo 255 del Código Alimentario Argentino, la carne picada fresca deberá presentar ausencia de cepas productoras de toxina, considerando la O157:H7 y las principales “no O157” (O26; O103; O111; O121 y O145). No obstante, se pueden investigar otros serotipos cuando se requiera, como es el caso del serotipo O45, cuyo análisis es requerido para la exportación (“Big Six”)

BACTERIAS COLIFORMES COMO INDICADORES DE CONTAMINACIÓN FECAL

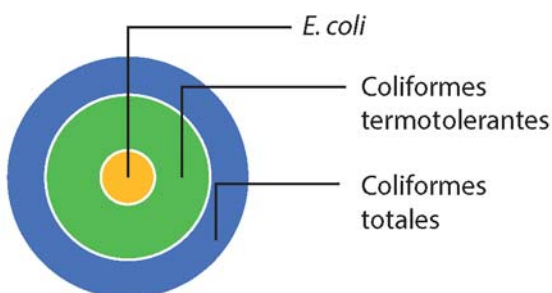
Las coliformes totales son adecuadas como indicadores de contaminación fecal debido a que conforman la microbiota normal del tracto gastrointestinal, tanto del ser humano como de los animales homeotermos y están presentes en grandes cantidades en él. Constituyen un grupo heterogéneo en términos de género y especie, todas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*. Definidas fisiológicamente como bacilos Gram negativos fermentadores de lactosa, productores de ácido y gas, aerobias o anaerobias facultativas, oxidasa negativa, no forman esporas y presentan actividad enzimática β -galactosidasa. Entre ellas se encuentran *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter* y *Klebsiella*.

Los coliformes termotolerantes soportan temperaturas hasta de 45°C, comprenden un número reducido de microorganismos indicadores de calidad por su origen. En su mayoría están representados por *E. coli*, pero pueden encontrarse de forma menos frecuente las especies *Citrobacter freundii* y *Klebsiella pneumoniae*. Estas últimas tienen un origen normalmente ambiental (sólo ocasionalmente forman parte de la microbiota normal). Se diferencian de las totales por la positividad en la prueba de indol.

Escherichia coli es anaerobia facultativa y forma parte de la microbiota normal del intestino del ser humano y los animales homeotermos, siendo



la más abundante de las bacterias anaerobias facultativas intestinales. Se excreta diariamente con las heces y, por sus características, es uno de los indicadores de contaminación fecal más utilizados. Se caracteriza por ser la única especie dentro de las enterobacterias que posee la enzima β -D glucuronidasa (GUD), que degrada el sustrato 4-metilumbeliferil- β -D-glucurónico (MUG), formando 4- metilumbeliferona.





MECANISMOS DE DETECCIÓN

En respuesta a los requerimientos de inocuidad alimentaria, Interciencia S.A., en representación de Eurofins Technologies e Hygiena, presenta una variedad de alternativas para el control de patógenos tanto en las líneas de producción como en el alimento terminado. Ofrece formatos simples con resultados cualitativos y formatos más precisos que permiten obtener resultados cualitativos mediante la detección de proteínas específicas o fragmentos genéticos. En todos los casos, estos test permiten arribar a una identificación en menos tiempo que lo necesario por métodos convencionales de microbiología.



Plataforma MicroSnap™

MicroSnap™ es un método rápido para la detección y enumeración de bacterias, que proporciona resultados procesables el mismo día. La plataforma consiste en un dispositivo de enriquecimiento que contiene un medio de crecimiento específico y un dispositivo de detección que contiene un sustrato bioluminogénico (productor de luz). Cuando MicroSnap™ detecta el microorganismo específico, la luz emitida se mide con el luminómetro de Hygiena™. Los resultados se almacenan y rastrean con el software SureTrend™ Cloud para un mayor análisis de datos y tendencias.

Figura 1 – Luminómetro Hygiena



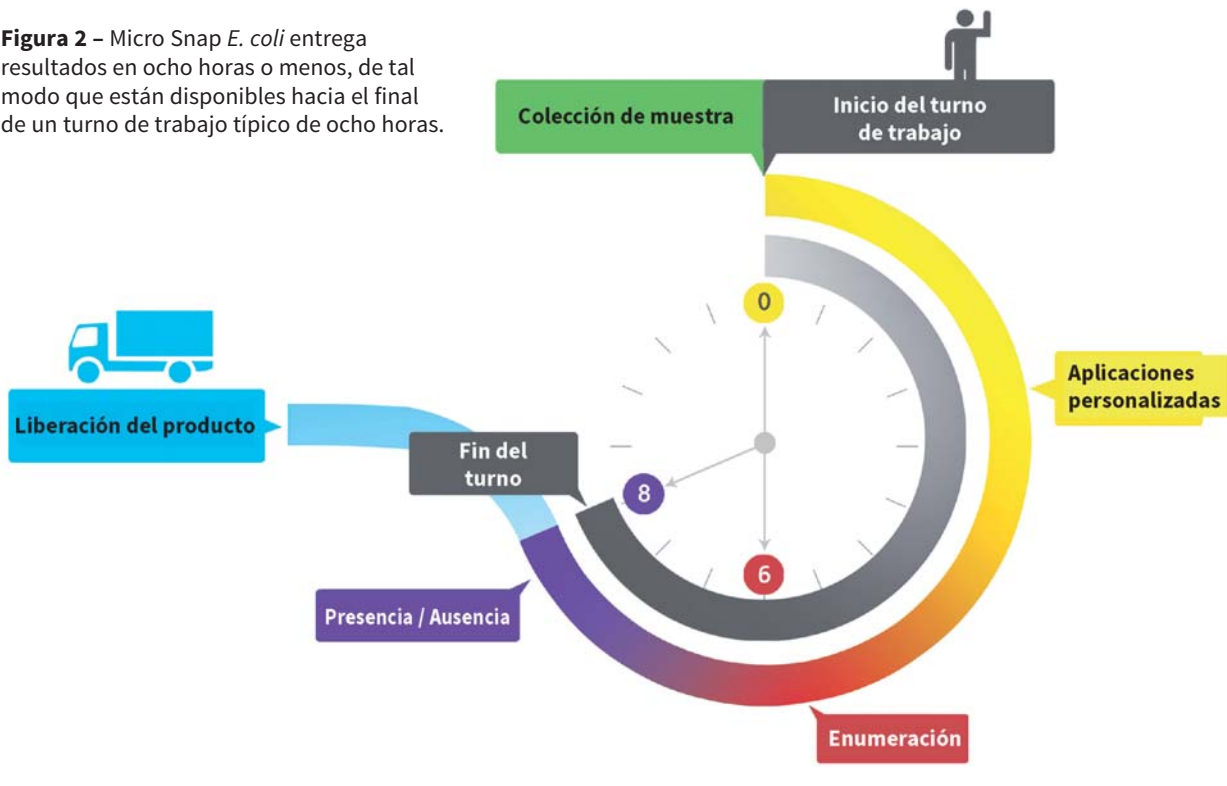
Las pruebas MicroSnap™-Coliform y MicroSnap™-*E. coli* están diseñadas para detectar específicamente coliformes y *Escherichia coli* en menos de ocho horas. Ambos métodos están certificados por la AOAC. En el paso de enriquecimiento, la muestra se incuba para aumentar el número de bacterias, que crecen generando una concentración proporcional de enzimas características (beta-galactosidasa y beta-glucuronidasa) que son necesarias para la reacción bioluminogénica. El tiempo de incubación de la muestra está determinado por el nivel de sensibilidad requerido. Después de la incubación, una pequeña cantidad de muestra se transfiere al dispositivo de detección, el cual se activa e incuba durante diez minutos. En ese momento, un sustrato específico reacciona con enzimas de diagnóstico para producir una señal lumínica proporcional al inóculo inicial, medible en un luminómetro Hygiena (Figura 1).

MicroSnap™ se puede utilizar para probar superficies ambientales, muestras de productos, agua y otros líquidos filtrables (Figura 2). MicroSnap™ ha sido validado para una amplia gama de alimentos, incluidos los principales grupos como carne, productos lácteos, verduras, agua potable y bebidas.

Revistas online

www.publitec.com

Figura 2 – Micro Snap *E. coli* entrega resultados en ocho horas o menos, de tal modo que están disponibles hacia el final de un turno de trabajo típico de ocho horas.



MÉTODOS DE AISLAMIENTO

Para prevenir la propagación de patógenos transmitidos por los alimentos, es recomendable un monitoreo rápido y confiable. Los métodos clásicos para las bacterias son extensos y laboriosos. Eurofins Technologies presenta los kits de aglutinación de látex (LAT) y de partículas inmunomagnéticas (IMS) para el análisis de todos los serotipos (O157 y No O157) exigidos por el Código Alimentario Argentino y por las entidades regulatorias internacionales. Estos kits se usan como parte del protocolo de la guía de laboratorio de prueba (MLG) descrito en el capítulo 5B-02 "Detección y aislamiento en productos cárnicos de *Escherichia coli* productora de Shiga-toxina (STEC)"



del USDA-FSIS. Los productos de la línea incluyen todos los reactivos necesarios para realizar el análisis en un formato sencillo para facilitar la identificación de las cepas en estudio.

Más de cinco décadas en la difusión de ciencia y tecnología de alimentos