

PRÁCTICA DE AULA 3.-CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL ENTORNO DE ALIMENTOS

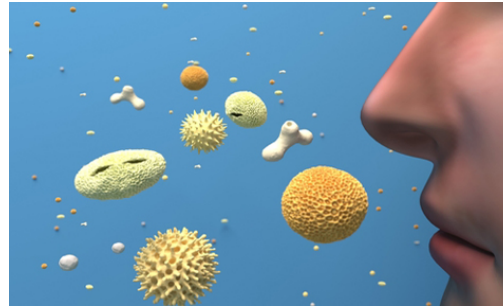
Control microbiológico del aire. Control microbiológico de superficies. Control microbiológico de agua potable



Microorganismos del aire

■ Los microorganismos acceden al aire en forma de aerosoles que se generan por:

- Gotas de lluvia
- Agua pulverizada de olas batientes
- Corrientes de agua que chocan con rocas
- Burbujas de gas que suben de sedimentos
- Tos y estornudos de humanos y animales



- La supervivencia, reproducción y dispersión en el aire de los microorganismos depende de las condiciones del entorno (temperatura, humedad relativa, movimiento del aire, luz y fuentes de nutrientes).
- El aire es un medio para la dispersión de muchos microorganismos (esporas, bacterias, virus y hongos) y sus toxinas sobre partículas de polvo, fragmentos de hojas, piel, fibras y gotas de agua y saliva (bioaerosoles).
- Los microorganismos dispersados por el aire tienen una gran importancia en la industria alimentaria ya que causan alteraciones en los alimentos y transmiten enfermedades.

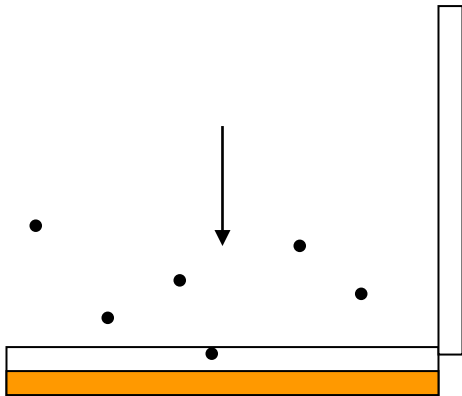
Métodos de muestreo del aire

Gravedad o sedimentación: es la forma más simple de toma de muestra de bioaerosoles, en la cual las partículas biológicas aerotransportadas son recogidas sobre una superficie adherente (agar en una placa Petri) por su capacidad de sedimentar por gravedad.

Es un procedimiento útil para estudios iniciales y para la estimación aproximada de la carga microbiológica tanto desde el punto de vista cuantitativo como cualitativo, si se eligen adecuadamente los medios de cultivo.

Procedimiento: Destapar placa, esperar un tiempo (20, 30, 40 min), tapar, incubar y determinar ufc.

No se conoce el volumen de aire muestreado



Impacto en medio sólido: el aire, aspirado por una bomba de vacío que forma parte del muestreador, pasa a través de un orificio y es dirigido a la superficie (porta, cinta adherente o un medio de cultivo sólido) donde impactan los microorganismos de acuerdo con su inercia. Los muestreadores por impacto incluyen los de rendija; tamiz de etapa simple, Andersen de varias etapas.

Procedimiento: Se muestrea un volumen determinado de aire. Los portas y cintas se observan al microscopio y la placas se incuban. Los resultados se expresan en ufc/m³ de aire

Se conoce el volumen de aire muestreado

Impactador de rendija

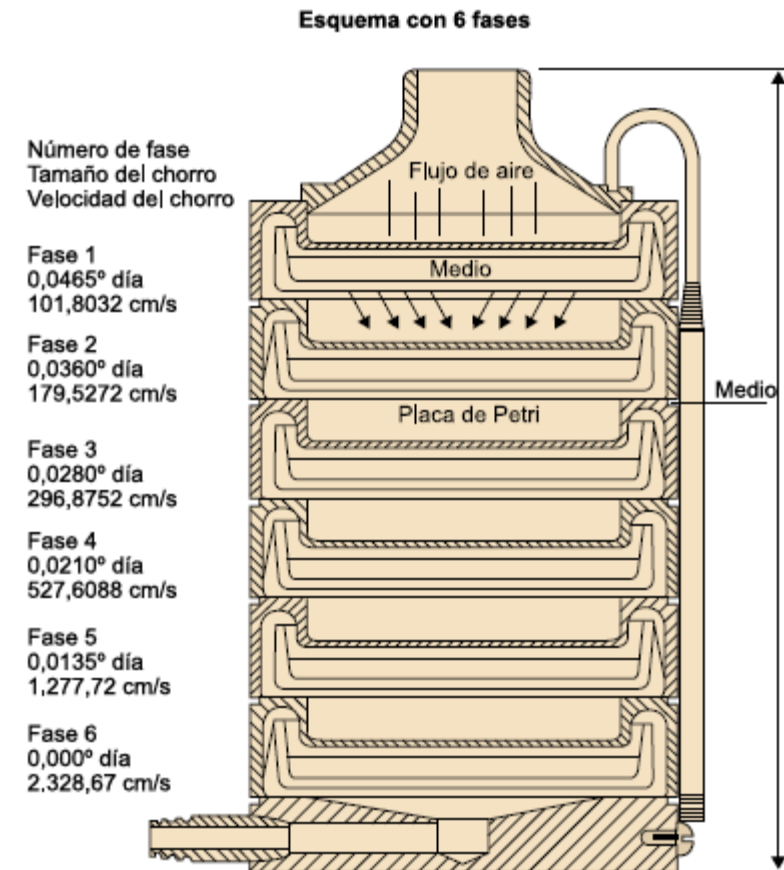


Impactador de tamiz de etapa simple



Figura 4. Muestreador Andersen

Figura 5. Muestreador Andersen



Burbujeo o impinger: El aire a muestrear pasa a través de un volumen conocido de líquido (suero salino, agua de peptona con agentes humectantes, medios líquidos...). Las partículas abandonan la corriente de aire por impactación en el líquido, quedando retenidas en el mismo.

Procedimiento: Se muestrea un volumen conocido de aire y en el líquido se determina la carga microbiana por métodos cultivables o no cultivables.

Se conoce el volumen de aire muestreado



Método de burbujeo seguido de filtración por membrana y cultivo en medio sólido para el recuento de microorganismos cultivable en aire poco contaminado



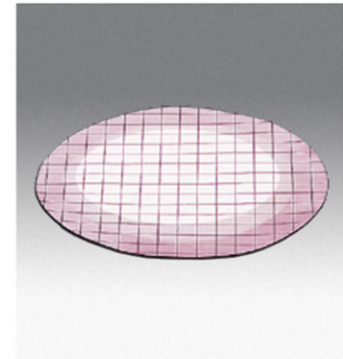
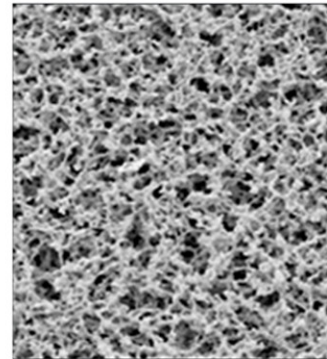
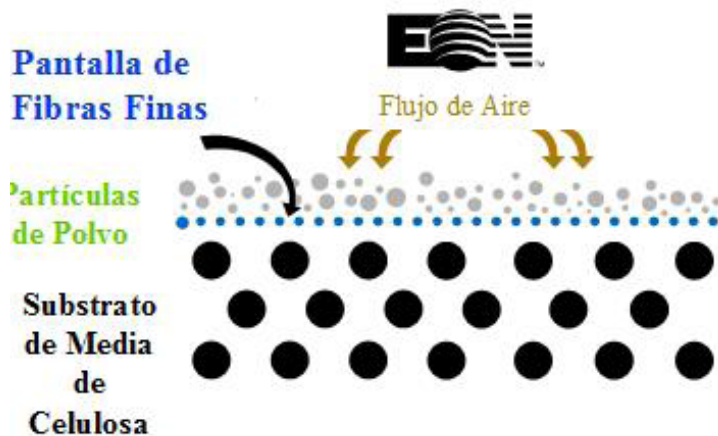
Filtración: el aire es aspirado a través de un sistema de filtración en el cual las partículas se depositan.

Se suelen usar filtros de policarbonato o de nitrocelulosa

Procedimiento: Se hace pasar un volumen conocido de aire a través del filtro y los microorganismos retenidos pueden ser

- removidos fácilmente de su superficie por agitación en líquidos adecuados, procediéndose a la posterior inoculación de la suspensión formada en los medios de cultivos específicos.
- Determinados directamente colocando los filtros sobre la superficie de medios sólidos

Se conoce el volumen de aire muestreado



Microorganismos de superficies

■ Microorganismos presentes en las materias primas, las propias personas, los instrumentos de trabajo, las ropas, las manos, el mobiliario o los elementos de construcción; que por sus características pueden convertirse en reservorios de agentes biológicos.

■ **Fómites:** objetos inanimados que pueden ser contaminados con microorganismos infecciosos y que sirven para su transmisión (vestidos, platos, juguetes, mesas)

■ Se contaminan mediante contacto directo con secreciones corporales, manos sucias, alimentos contaminados o sedimentación de aire



■ El microorganismo debe sobrevivir asociado al fómite. La supervivencia (que puede ir desde minutos a semanas) depende de:

- Temperatura
- Humedad
- Evaporación
- Desección
- Luz y radiación uv
- Propiedades de la superficie
- Sustancia en que se encuentra suspendido el microorganismo
- Capacidad para formar biofilms

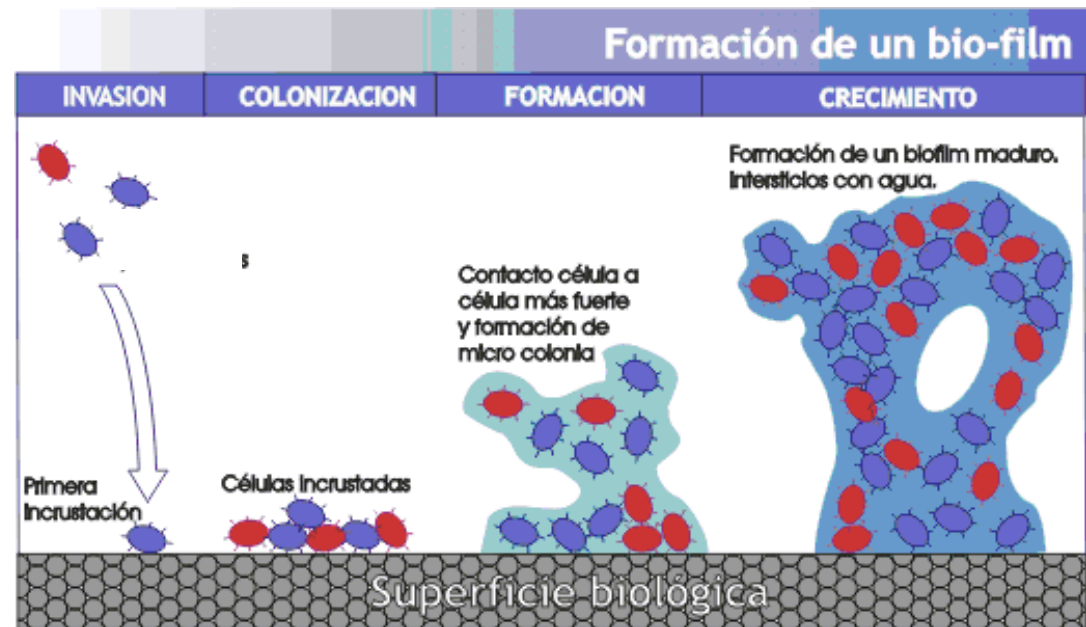
Biofilm matriz formada por microorganismos que se adhieren a las superficies y forman películas o bioincrustaciones a las que no llegan los bactericidas.

-La adherencia está relacionada con polímeros extracelulares –polisacáridos y glicoproteínas- de los microorganismos

-Se forman en superficies de acero, vidrio, fórmica, polipropileno, etc.

-Las zonas rugosas, las grietas, ángulos y soldaduras discontinuas o deficientes son sitios probables para la formación biofilms bacterianos

-Microorganismos capaces de formar biofilms: *E. coli* O157:H7, *L. monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus*, bacterias Gram negativas alterantes, *Bacillus* spp., etc..



Muestreo de superficies

- Se realiza fundamentalmente en estudios de higiene alimentaria

Placa de contacto RODAC (Replicate Organism Direct Agar Contact): Placas de Petri con medio sólido que forma una superficie convexa la cual se presiona sobre la superficie que se quiere muestrear. El resultado se expresa en **ufc/placa o en UFC/cm² de superficie** (se considera que una placa Rodac tiene 25 cm²)

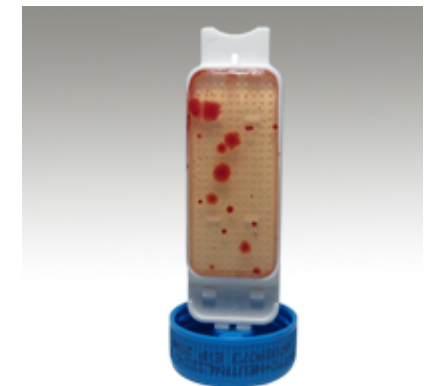
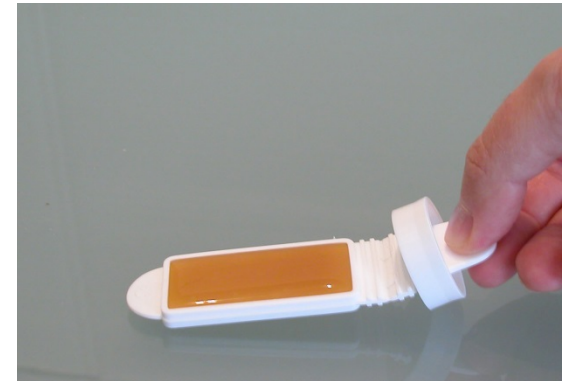


Es el método ideal para examinar superficies lisas, duras y no porosas, pero no es muy recomendable en casos de superficies muy contaminadas

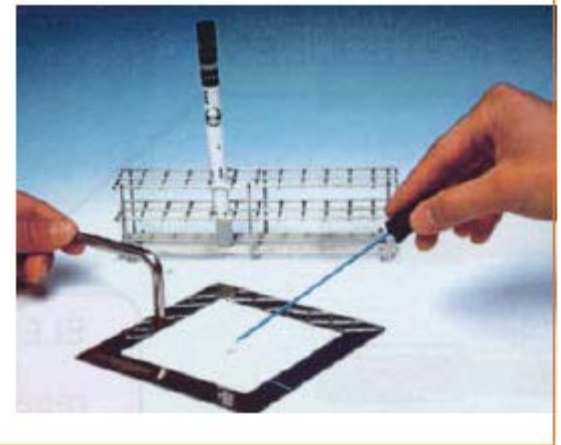


Los laminocultivos o láminas LISC El fundamento es similar al de las placas Rodac. Consta de un frasco con una lámina de plástico recubierta de medio de cultivo (uno por cada lado), la unión de la lámina con la tapa es flexible de modo que con la simple presión de la mano puede doblarse en ángulo de 90° respecto al tapón, permitiendo así una posición perfectamente paralela con la superficie a muestrear

El recuento microbiano de las superficies se lleva a cabo contando las colonias presentes en cada uno de los medios del laminocultivo y se divide entre 10. Este resultado corresponderá a las unidades formadoras de colonias por cm^2 .



Torundas de superficie o hisopo lavado Se toma un hisopo de **algodón estéril** humedecido con tampón y se fricciona la superficie que se desea muestrear. Luego se dispersa la torunda en un tampón y se determina la carga microbiana.



■ El Servicio de Salud Pública de EEUU recomienda que en utensilios y equipamiento debidamente limpios y desinfectados **no deben tener más de 100 colonias por utensilio o área muestreada**. En muchos casos el tipo de microorganismo puede ser más significativo que el valor numérico.

LÍMITES CRÍTICOS en superficies de contacto con alimentos

Microorganismos indicadores

– Como criterio general, para resultados del recuento de bacterias aeróbicas totales y enterobacterias se pueden utilizar como referencia los límites establecidos en la directiva derogada D 2001/471/CE [1]:

	Valores aceptables	Valores inaceptables
Bacterias aeróbicas totales	0-10 ufc/cm ²	> 10 ufc/cm ²
Enterobacterias	0-1 ufc/cm ²	> 1 ufc/cm ²

LÍMITES CRÍTICOS en superficies que no contactan directamente con alimentos

Microorganismos indicadores

–No se han hallado criterios de referencia a aplicar a los resultados del recuento de microorganismos indicadores para este tipo de superficies, con la excepción del límite propuesto por la autoridad irlandesa de desarrollo agroalimentario (Teagasc), que considera satisfactorios los recuentos ≤ 100 ufc de **bacterias aeróbicas mesófilas** en superficies que no contactan directamente con alimentos [15].

LÍMITES CRÍTICOS en superficies (contacto directo e indirecto)

Microorganismos patógenos

–El criterio a aplicar por lo que se refiere a los resultados de los análisis de detección de *Salmonella*, *Listeria* u otros patógenos en superficies limpias y desinfectadas debe ser siempre **Ausencia**.

Microorganismos del agua

- En la naturaleza rara vez el agua es totalmente pura. Hasta el agua de lluvia se contamina al caer a la Tierra
- El agua es con frecuencia una fuente potencial de enfermedades infecciosas principalmente porque una única fuente de agua sirve para abastecer a un gran número de personas
- Si el agua disponible está contaminada, el agua tiene la capacidad de difundir enfermedades a todos los individuos expuestos
- La forma más peligrosa de contaminación de las aguas es la que producen las heces ya que muchas enfermedades se transmiten a través de la ruta fecal-oral.



Agua potable y normativa

Se denomina **agua potable** o agua para el consumo humano, al agua que puede ser consumida **sin restricción para beber o preparar alimentos**



- Real Decreto 140/2003, de 7 de Febrero por el que se establecen los criterios sanitarios de calidad del agua de consumo humano.
- En su artículo 5: Criterios de calidad del agua de consumo humano establece que “El agua de consumo humano deberá ser **salubre y limpia**. A efectos de este Real Decreto, un agua de consumo humano será salubre y limpia cuando no contenga ningún tipo de microorganismo, parásito o sustancia, en una cantidad o concentración que pueda suponer un riesgo para la salud humana, y cumpla con los requisitos especificados en las partes A y B del anexo I (Parámetros Microbiológicos y Químicos respectivamente)”
- En su artículo 17. Control de la calidad del agua de consumo humano establece que . “En términos generales, en cada abastecimiento se controlarán los parámetros fijados en el anexo I (A. Parámetros Microbiológicos, B1. Químicos, B2. Químicos que se controlan según especificaciones del producto y C. Indicadores). Cuando la autoridad sanitaria lo disponga se controlarán aquellos parámetros o contaminantes que se sospeche puedan estar presentes en el agua de consumo humano y suponer un riesgo para la salud de los consumidores. En el caso de los parámetros de la parte C del anexo I, la comunicación se realizará semanalmente”.

- Dentro del Anexo I en el apartado A: Parámetros microbiológicos que son de obligado cumplimiento para la denominación de agua saludable y limpia son

ANEXO I

Parámetros y valores paramétricos

A. Parámetros microbiológicos



Parámetro	Valor paramétrico	Notas
1. Escherichia coli	0 UFC en 100 ml	1 y 2
2. Enterococo	0 UFC en 100 ml	
3. Clostridium perfringens (incluidas las esporas) ..	0 UFC en 100 ml	

Notas:

(1) Cuando la determinación sea positiva y exista una turbidez mayor 5 UNF se determinarán, en la salida de ETAP o depósito, si la autoridad sanitaria lo considera oportuno, «Cryptosporidium» u otros microorganismos o parásitos.

(2) Hasta el 1 de enero de 2004 se podrá determinar «Clostridium» sulfito reductor en vez de «Clostridium perfringens». Las condiciones descritas en la nota 1 y el valor paramétrico serán los mismos para ambos.

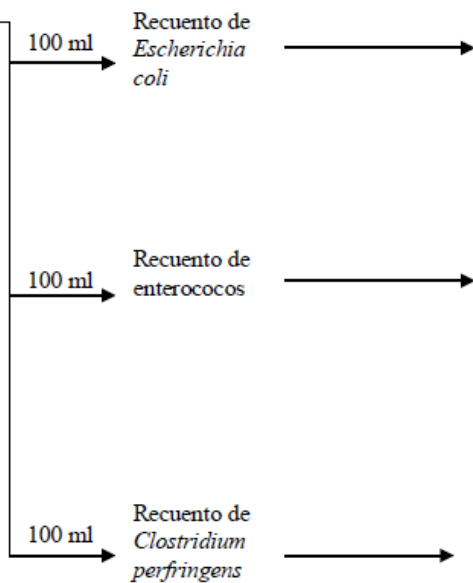
- Dentro del Anexo 2. Parámetros indicadores

C. Parámetros indicadores

Parámetro	Valor paramétrico		Notas
31. Bacterias coliformes	0 UFC	En 100 ml	
32. Recuento de colonias a 22 °C			
A la salida de ETAP	100 UFC	En 1 ml	
En red de distribución	Sin cambios anómalos		



- Los métodos de análisis se recogen en el RD en el Anexo IV son por filtración por membrana



Etapas principales en el proceso de filtración a través de membrana

