

II

MICROBIOLOGÍA DE
LOS ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Prof. Dr. D. BERNABÉ SANZ PÉREZ
Universidad Complutense

MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS DE ORIGEN ANIMAL

Prof. Dr. D. BERNABÉ SANZ PÉREZ

Sería una gran osadía por mi parte pretender exponer en sólo una hora la microbiología de todos los alimentos de origen animal, tema sobre el que se han escrito excelentes monografías y libros, algunos de los cuales aún abarcando sólo un aspecto muy concreto, ocupan gran número de páginas; sirvan de ejemplo la *Microbiología de la carne*, de Brown, que consta de 520 páginas y los dos volúmenes de la *Microbiología Lactológica* de Robinson, cuya extensión es aproximadamente la misma que la del libro de Brown.

Afortunadamente, al haber tratado antes de los alimentos como sustrato microbiano, hemos sentado las bases generales de la microbiología y de la alteración microbiana de los alimentos, lo que nos ahorrará repeticiones innecesarias. La preparación científica de quienes me escuchan, y sobre todo su paciencia, me van a permitir hacer una breve revisión sobre el estado actual del tema que hoy me toca exponer. Espero que la superficialidad a que me obliga el tiempo disponible y mis conocimientos se compense con las intervenciones de quienes participen en el coloquio y comentarios posteriores.

La importancia de la microbiología de los alimentos radica en los posibles riesgos que supone para el consumidor la presencia de microorganismos en los alimentos, en el papel que desempeñan en el deterioro o descomposición de los últimos y en su empleo, como agentes imprescindibles, en la transformación de ciertos alimentos.

Dada la presencia universal de los microorganismos en todos los ambientes de nuestro planeta es natural que también se encuentren en los alimentos en donde en ciertos casos, desempeñan funciones muy de desear, mientras que en otros, por perjudiciales, son completamente indeseables. La implantación y desarrollo de una flora microbiana determinada en algunos alimentos y las actividades metabólicas que llevan a cabo son indispensables para la elaboración de muchos alimentos fermentados. En este caso, el alimento sirve de sustrato nutritivo para la multiplicación de los microorganismos beneficiosos y de materia prima para la obtención de un producto alimenticio de características distintas de las del alimento original. Para ello, o bien se procura seleccionar

y favorecer el crecimiento de la fracción de la flora microbiana beneficiosa que se encontraba en el alimento en su estado natural o bien se le incorporan cultivos iniciadores. Lo que pretenden ambos procedimientos es estimular el crecimiento de los microorganismos beneficiosos a expensas de los perjudiciales. Los últimos, además del peligro que suponen en algunos casos como una causa de enfermedades zoonóticas y toxinfecivas, pueden ocasionar en el ganado graves epizootias y brotes eporníticos aviares. Otro aspecto interesante económicamente es el papel que algunos de ellos desempeñan como alterantes de los alimentos. De aquí que se haya dicho y con razón, que el conocimiento de la microbiología de los alimentos es la base fundamental para entender los problemas de la Higiene e Inspección de los alimentos.

En los alimentos crudos, suele haber múltiples géneros y especies microbianos pero son sólo unas pocas especies las que se desarrollan, concretamente las que se encuentran con unas condiciones de crecimiento más favorables. Dice el profesor Hayes, autor de un excelente libro de Microbiología e Higiene de los alimentos, que son sólo una o dos especies de las originalmente presentes en el alimento las que se convierten en la flora más abundante y consecuentemente son las responsables del deterioro y añade que por ello los microorganismos alterantes representan sólo una pequeña parte de la microflora inicial. De acuerdo con Ingram y otros muchos microbiólogos, para inducir una alteración alimentaria se necesitan unas 10^8 bacterias/gramo por ello se cree que el deterioro observado en los alimentos cuyo recuento es menor del citado, tiene un origen no microbiano.

CONTAMINACIÓN DE LOS ALIMENTOS

La presencia de microorganismos tanto en la superficie, como en la profundidad de los productos alimenticios, se debe como se ha dicho antes, a la presencia de microorganismos en todos los lugares del planta. Destacan entre ellos el suelo, el agua, el aire, los vegetales, otros animales e incluso el mismo hombre.

En las capas superficiales del suelo, ricas en materia orgánica, hay poblaciones microbianas abundantes que llegan hasta 10^8 - 10^{10} bacterias y 10^5 hongos/gramo. A medida que se profundiza en el suelo, la carga microbiana disminuye y por ejemplo, a unos 30 cm. de la superficie suelen encontrarse 10^3 - 10^5 microorganismos/gramo. A 4 metros de profundidad, sólo esporádicamente se encuentran microorganismos. En la superficie del suelo predominan las bacterias esporuladas aerobias, los actinomicetos y mohos y en los lugares

de difícil acceso al oxígeno las esporuladas anaerobias. Los microorganismos llegan directamente desde el suelo a los vegetales que en él crecen y el polvo y el viento los transporta con las partículas de tierra a otros lugares y alimentos.

Todas las aguas en general contienen microorganismos en cantidades y variedades que dependen de los nutrientes que llevan (sobre todo materia orgánica y N y P), de la temperatura, de la época del año, de la intensidad luminosa y de la profundidad de las aguas. Las aguas de manantial y subterráneas, limpias y pobres en nutrientes microbianos, no suelen superar los 100 microorganismos/ml. La carga de ríos y lagos es muy variable, dependiendo de su suciedad y de que contengan o no vertidos urbanos; a veces llegan a los 10^5 microorganismos/ml. Las aguas marinas, salvo las costeras que llegan a 10^4 - 10^5 microorganismos por gramo suelen tener recuentos muy pobres. En las aguas subterráneas suele haber microorganismos móviles y psicrotrofos, como *Pseudomonas*, vibrios y otras Gram-negativas, además de levaduras y hongos. Sin embargo, predominan las bacterias. El agua, dependiendo del polvo que lleve en suspensión y de su naturaleza, puede contener hasta 10^5 microorganismos/ml. El polvo del aire cuando sedimenta y contacta con los alimentos es una fuente de contaminación importante, tal sucede en ciertos lugares, como establos y granjas aviares, donde leche y huevos pueden contaminarse con los microorganismos del polvo. Las corrientes artificiales de aire producidas por ventiladores, acondicionadores, etc., contribuyen mucho a la contaminación. En el aire predominan las bacterias cocáceas, las cromógenas y las esporas de las esporuladas aerobias, así como las de los mohos. Los estornudos y toses de los animales, también contribuyen al recuento microbiano del aire de los alojamientos animales.

Con frecuencia los alimentos de origen animal llevan ingredientes vegetales como guarniciones y condimentos, que pueden albergar microorganismos. En su mayoría proceden del suelo y también del polvo de la atmósfera y de las aguas de riego. Suelen predominar los lactobacilos, las bacterias esporuladas tanto aerobias como anaerobias, los micrococos y hasta las enterobacteriáceas si se utiliza el estiércol como fertilizante y las aguas de desecho urbano para regar. También hay hongos y levaduras.

Los animales son una fuente de microorganismos para los alimentos de este origen, como carne, leche, huevos y pescado principalmente. En general las regiones anatómicas animales que presentan mayores recuentos son las que contactan con el entorno del animal, como piel, mucosas externas, tractos digestivo y respiratorio y mamas en las hembras lecheras lactantes. Se admite que las regiones situadas por debajo de las citadas que no contactan con el exterior son normalmente estériles salvo en animales que sufran alguna

enfermedad infecciosa y en los sacrificados en condiciones de estrés. La carga microbiana animal es un reflejo de su estado sanitario y de la limpieza e higiene de la granja o explotación: la mayoría de los microorganismos que la componen proceden del polvo y suciedad de los locales ocupados por los animales y sobre todo de las partículas de heces que los ensucian cuando las condiciones de alojamiento son higiénicamente deficientes. De aquí que las especies microbianas de la piel, pelo, lana y plumas sean un reflejo de las que medran en el entorno inmediato de los animales.

En la piel del vacuno son corrientes los recuentos que superan los 10^5 microorganismos/cm² y en la de los cerdos sin lavar y lana de las ovejas se han alcanzado recuentos muy superiores, de hasta 10^8 /cm². En piel, pelo, lana y plumas predominan los siguientes géneros bacterianos: *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Sarcina*, *Pseudomonas*, otras Gram-negativas, esporuladas aerobias y mohos y levaduras. En la mucosa nasal abundan cocáceas, en la panza hay una microflora y microfauna compleja, con recuentos de hasta 10^8 microorganismos/ml., mientras que en el estómago de los monogástricos, pese al pH ácido del jugo gástrico, en el fondo del mucus y en los surcos de la mucosa hay siempre algunos lactobacilos, estreptococos y micrococos. A medida que el intestino se aproxima al ano aumenta la carga microbiana de su contenido y así de los 10^3 - 10^4 /gr. en el duodeno, se pasa en el yeyuno e íleon a 10^7 - 10^8 , llegando en ocasiones en el intestino grueso a 10^{12} /gr. De aquí la importancia de las heces como **fuentes concentradas de contaminación microbiana**.

También la especie humana desempeña un papel importante en la contaminación bacteriana de los alimentos. Los microorganismos de la piel, pelo, saliva, mucosidad nasal, heces, etc. especialmente en individuos poco exigentes con su higiene personal pueden pasar a los alimentos. La flora microbiana humana es muy parecida a la de los animales por lo que no insistiremos en las especies que la componen.

Al encontrarse los microorganismos de forma natural en los animales, pasan de ellos a los alimentos, esto es, la carga microbiana animal original constituye lo que algunos han llamado la contaminación primaria. En condiciones fisiológicas tiene poca importancia ya que en los animales vivos se limita a las regiones en las que se ubican de forma natural los microorganismos. No obstante, si se altera la salud animal o si los animales se someten a situaciones de estrés, se rompe el equilibrio entre microorganismos/hospedador animal y parte de la flora intestinal superando la barrera entérica se distribuye por todo el organismo animal; si entre las bacterias intestinales había alguna zoonótica siempre cabe el peligro de contagio humano del consumidor. De

aquí la importancia de criar no sólo animales sanos en ambientes limpios y tranquilos, sino también de realizar un transporte animal cómodo y rápido y de evitar estresarlos antes y durante el sacrificio.

Es mucho más frecuente la contaminación secundaria, término que comprende el paso de los microorganismos desde todas sus posibles fuentes contaminantes al alimento, con la excepción de los animales productores, es decir, suelo, aguas, otros animales domésticos, insectos, etc.

MICROBIOLOGÍA DE LA CARNE

La carne es un medio excelente para el desarrollo de los microorganismos: su alto contenido acuoso, en torno al 80% (equivalente a una $a_w=0,98$), el poseer sustancias sencillas fácilmente atacables por los microorganismos, como los compuestos nitrogenados no proteicos (0,8-1%), los carbohidratos (0,5-1%), ciertas vitaminas y minerales y el pH que alcanza después de la resolución del *rigor mortis* (valores $>6,5$) permiten el desarrollo de una gran variedad de especies microbianas a no ser que se frene su multiplicación por el frío u otro método de conservación.

Por todo ello, la carne es un alimento perecedero o fácilmente alterable. Sus alteraciones microbianas generalmente aparecen antes y se extienden más rápidamente que las químicas, de aquí su mayor importancia comercial. Si a ello se añade, como hemos dicho, que entre los microorganismos que contaminan la carne pueden encontrarse algunos patógenos específicos y los productores de toxiinfecciones alimentarias comprenderemos que a la importancia comercial de la contaminación de la carne haya que sumar su peligrosidad para la salud.

La contaminación de la carne ocurre durante el sacrificio animal y operaciones posteriores. La superficie de la canal se contamina fácilmente a partir de la piel del animal, que como se ha señalado, contiene un gran número de especies de microorganismos procedentes de las heces, suelo, agua, pienso, etc. En los cerdos, el agua utilizada en los tanques de escaldado si no se renueva con frecuencia, contamina a los animales con una flora variada. Del mismo modo, si se retrasa la evisceración los microorganismos entéricos contaminan las regiones próximas al intestino. Los cuchillos, ropas y manos de los matarifes actúan como vehículos de contaminación durante el desuello, evisceración y obtención de semicanales y cuartos. Lo mismo sucede con los operarios y utillaje de salas de despique. En los locales de venta al por menor y en el hogar se producen contaminaciones adicionales a partir del instrumental

empleado (tablas, cuchillos, recipientes, etc.). Puede concluirse que, aunque se guarden las medidas higiénicas más estrictas es imposible impedir que lleguen algunos microorganismos a la carne; su contaminación es por tanto inevitable. Una carne obtenida con “buenas prácticas de carnización” puede alcanzar después del sacrificio y manipulaciones sucesivas recuentos de 10^3 - 10^4 u.c.f./cm².

Como medidas más eficaces para evitar la contaminación inicial de la carne hay que tener en cuenta dos detalles:

1.- Que cuanto menor sea la contaminación original de la carne más tiempo tardarán las bacterias en alcanzar recuentos alterantes.

2.- Que el enfriamiento rápido de la carne frena la multiplicación microbiana.

En consecuencia, hay que procurar que los animales lleguen al sacrificio lo más limpios posible, que todas las dependencias del matadero se mantengan limpias y que los matarifes y demás operarios sean conscientes de la importancia de su higiene personal y vayan convenientemente vestidos como exigen las correspondientes directivas de la Unión Europea.

Al mismo tiempo, se procurará evitar en los animales todo tipo de estrés por las consecuencias que tiene la difusión bacteriana *intra vitam*.

Efectos de las temperaturas de almacenamiento

A temperatura ambiente (15-30° o incluso más en verano) las bacterias anaerobias se desarrollan rápidamente en el interior de la musculatura originando la putrefacción de la carne. La primera fase de ésta alteración se caracteriza por la producción de gas, sin que aparezcan olores repugnantes, debido a que las bacterias anaerobias atacan primero a los hidratos de carbono y al lactato de la carne, liberando dióxido de carbono; al mismo tiempo cambia el color debido a la oxidación de la mioglobina que forma pigmentos gris-verdosos, pero no aparecen olores desagradables al no haber todavía proteólisis. En una etapa posterior, proliferan las especies proteolíticas, como *Cl. bifermens*, *Cl. sporogenes* y *Cl. oedematiens*. Estas bacterias son las responsables de la auténtica putrefacción que consiste en la descomposición anaerobia de las proteínas con producción de sustancias malolientes, como sulfuro de hidrógeno, mercaptanos, indol, escatol, amoníaco, aminas, etc. La carne en estas condiciones presenta un color verdoso y desprende un olor muy repugnante.

10^8 ucf/cm² con la aparición de limosidad (adipocina) constituida por polisacáridos sintetizados por las bacterias.

Como hemos apuntado, la vida útil de la carne refrigerada depende de la contaminación original y de la temperatura de almacenamiento (cuanto mayor sea ésta, menor será su vida útil). A 0°C es de unas tres semanas y se reduce a dos si se mantiene a 5°C. Por encima de estos valores, la alteración es muy rápida (menos de una semana).

Microbiología de la carne envasada en película de plástico

Los materiales de envasado de los alimentos varían desde los muy impermeables, que son necesarios para el envasado al vacío, a los muy permeables y desde los opacos a los transparentes. Se componen de una sola película sencilla de un material como el polietileno (o políteno) o el cloruro de polivinilo (PVC), o de multicapas formadas por varios componentes. Las multicapas pueden estar constituidas, por ejemplo, por una lámina de celulosa o material similar, a la que se le aplican en una o en ambas caras o superficies películas de nitrocelulosa y cera. Otras veces, las películas de, por ejemplo etilen-vinilacetato, se cubren por ambas caras con otras de PVC, tal es el caso del "Cryovac".

Las carnes frescas suelen envasarse en bandejas plásticas cubiertas con una película impermeable al oxígeno con el fin de conservar el color rojo brillante de la oximioglobina. Por el contrario, las carnes curadas se envasan en películas impermeables al O₂ para evitar que empalidezca su color, como consecuencia de la oxidación. Últimamente, se intenta mantener los cortes primarios de vacuno refrigerados y envasados al vacío, para ampliar su vida útil y a la vez evitar las mermas superficiales por pérdida de humedad.

La carne fresca envasada al vacío y refrigerada a 3-5°C retrasa de 3 a 5 días el desarrollo bacteriano inicial y además el crecimiento subsiguiente es lento, necesitando unos 10 días aproximadamente para alcanzar los 10⁷ microorganismos/cm² (o por gramo en el caso de carne picada). Mientras en la carne envasada al vacío en películas permeables predomina el género *Pseudomonas*, en la envasada en películas impermeables es el género *Lactobacillus* el predominante. Por lo tanto, la permeabilidad o impermeabilidad del envase es un factor importantísimo respecto de las bacterias que se desarrollan en la carne. *Brochothrix thermosphacta* es un bacilo pequeño Gram positivo e inmóvil que no se desarrolla en los envases impermeables pero en los permeables puede suponer del 20 al 30% de la flora total.

Microbiología de las carnes curadas

Las sales del curado tienen como ingredientes principales sal, nitratos y nitritos. La sal actúa disminuyendo la a_w de la carne a la que *Pseudomonas* es muy sensible. El nitrito además de colaborar al mantenimiento del color rojo agradable de estas carnes, previene la germinación y crecimiento esporular. *Per se* no es muy activo pero junto con la sal, el pH ácido y al temperatura de almacenamiento en refrigeración, contribuye a la estabilidad de estas carnes.

Las salmueras de curado suelen contener 25-27% de NaCl y en ellas predominan ciertos *Micrococcus* que toleran a_w bajas. Además son psicotrófos y crecen a 4°C. Reducen los nitratos a nitritos.

El ejemplo típico de las carnes curadas es el bacon que contiene 10^4 - 10^6 bacterias/cm², recuento que durante su corte en lonchas se reparte por las correspondientes superficies. Si se permite que la temperatura alcance los 20°C o más el bacon presenta a los 8-10 días un recuento de 10^7 bacterias/gr. Y a las dos semanas se aprecian olores rancios típicos de la alteración. Si la concentración salina es menor de 25%, la alteración se adelanta y se implanta una flora heterogénea: micrococos, enterococos, lactobacilos y *Leuconostoc*. A temperaturas de 25°C predominan *Vibrio* y *Proteus* que son los responsables de la alteración.

MICROBIOLOGÍA DE LA CARNE DE AVES

Las especies de esta carne son las mismas que las estudiadas en la de mamífero, si bien su carnización difiere de la de los mamíferos de abasto lo que se refleja en los géneros y especies que predominan en cada una de las fases de la carnización. Así antes del escaldado (55°C, 30 segundos) hay una flora muy heterogénea pero en esta fase mueren los más termosensibles, esto es, los psicrotrofos que disminuyen mucho. Las desplumadoras, además de aumentar la carga microbiana de la piel, pueden ocasionar contaminaciones cruzadas y problemas de aerosoles. La evisceración aumenta también la carga microbiana, sobre todo con especies fecales, pudiendo ocurrir la contaminación cruzada de las canales. Por último la limpieza (lavado) y refrigeración final disminuye casi en un 90% la flora microbiana. El efecto de la irradiación gamma es todavía más efectivos; ha sido autorizado recientemente por la FDA de los EE.UU.

MICROBIOLOGÍA DEL PESCADO

Sobre la microbiología del pescado fresco y alterado hay una abundante bibliografía, dado que son muchos los experimentos realizados para comprender y evitar el deterioro de tan importante fuente nutritiva. Aunque menos abundantes no por ello escasean los que se refieren a la microbiología del pescado sometido a diversos procesos industriales para prolongar su vida de almacén. La inmensa mayoría se refieren al pescado marino.

Se admite que la musculatura de los peces sanos, recién capturados, lo mismo que la carne de aves y mamíferos es estéril en sus porciones internas. No ocurre así con la piel, branquias o agallas y aparato digestivo cuyos microorganismos constituyen el mayor porcentaje de la flora total, tanto del pescado fresco recién obtenido, como del conservado con hielo y del alterado. Las principales fuentes de contaminación de la carne del pescado son:

a.- Las bacterias del contenido intestinal que llegan a la musculatura al traumatizarse el pescado durante su captura por arrastre, al estibarlo en la bodega y al realizar una evisceración defectuosa.

b.- Las bacterias de la mucosidad que cubre la piel que, a su vez, se contamina con el agua de lavado, con los recipientes en donde se deposita o incluso con la cubierta y las bodegas del barco pesquero.

c.- Las bacterias de manos, cabellos y descamaciones, botas, ropa, aire expirado, saliva, etc. de pescadores y manipuladores en general.

d.- Las bacterias del hielo conservador.

El pescado es un excelente sustrato para el desarrollo microbiano por varias razones: su pH está próximo a la neutralidad y a veces incluso la alcanza en ciertas especies como la mielga (*Squalus acanthias*); las branquias son una vía fácil de penetración microbiana; los peces poseen un tejido conjuntivo más sencillo y más fácilmente penetrable por las bacterias que la carne; tienen una gran riqueza de sustancias nitrogenadas no proteicas; el mucus que recubre la piel es fácilmente atacado por las bacterias y aún extremando los cuidados, las condiciones de limpieza a bordo y en las bodegas y sobre todo la manipulación del pescado no permiten una verdadera limpieza microbiológica. Traumatismos y presiones durante la estiba y la fusión del hielo conservador, que pronto se contamina, contribuyen a difundir las bacterias.

El recuento microbiano del pescado al descargar el copo en cubierta varía con una serie de factores como:

- Método de pesca. Siempre tiene más carga el capturado por arrastre.
- Distancia de la zona de pesca a la costa. Cuanto mayor es, menores recuentos alcanzan. Esto se debe a la purificación que con el tiempo experimenta el agua marina.
- Profundidad a la que tiene lugar la captura. El pescado de las aguas superficiales lleva más bacterias que el del fondo, y éste más que el de las aguas intermedias.
- Tipo de pescado. El de bancos pelágicos que viven cerca de la costa posee mayores recuentos que el de alta mar y el de fondos marinos.
- Época del año: Siempre es menor el recuento en los meses de frío que en los cálidos.
- Condiciones climáticas. Afectan a los tipos de bacterias de la piel y agallas del pescado recién capturado. Por ejemplo, en los mares fríos del hemisferio Norte predominan los bacilos psicrotrofos Gram negativos, como *Pseudomonas* (44-60%), *Acinetobacter/Moraxella* (10-30%), *Alteromonas*, etc. En cambio, en los mares de la India, Australia y Mar Adriático, la proporción de mesófilos es mucho mayor, con claro predominio de *Micrococcus* (30-50%) y corineformes (20-25%).

Como se ha señalado antes, conviene recordar que el agua marina dispone de mecanismos de autopurificación microbiana. Solo así se explica que en alta mar hasta el Mediterráneo presente un recuento microbiano escaso o testimonial. Entre los mecanismos de purificación microbiana de las aguas, se han señalado:

- La disolución de los vertidos contaminados del agua de los ríos con la del mar.
- La oxidación, facilitada por el oleaje.
- La sedimentación de los microorganismos y su fijación a los suelos o fondos marinos.
- La destrucción de bacterias por los protozoos.
- La irradiación solar.
- El efecto bactericida que según algunos, posee el agua del mar.
- El efecto conjunto de estos factores que sería manifiesto al alejarse de la costa.

Puesto que peces y mariscos son animales de sangre fría (poiquilotermos), su carga microbiana será, en gran parte, reflejo de la de su entorno. Entorno que es distinto en el mar, a bordo, en tierra, antes y después de sometido a tratamiento. Después de capturado el pescado el número y tipos de

microorganismos que presente, dependerá fundamentalmente del cuidado y tratamientos que haya recibido antes, durante y después de su procesamiento industrial.

El deterioro de los distintos productos pesqueros variará también dependiendo de la flora que en ellos predomine y de su capacidad de desarrollo; del mismo modo, el posible peligro para la salud pública del pescado será función de que posea o no microorganismos patógenos humanos.

Adelantemos, que si el pescado recién capturado se refrigera y manipula convenientemente durante su vida comercial, manteniendo en todo momento una eficiente cadena de frío, serán muy pocos los problemas microbianos que origine este alimento, no obstante, conviene recordar que, hasta el pescado mantenido en estas condiciones, experimenta con el transcurso del tiempo cambios deteriorativos.

Desde los primeros trabajos de Shewan, en 1950, se sabe que con el transcurso del tiempo en el pescado fresco, mantenido en hielo, se desarrolla, como flora predominante, una población microbiana formada por bacterias psicrófilas y psicrotrofas. Aunque en las publicaciones de los años 50 y 60 existía bastante confusión en lo referente a taxonomía y nomenclatura bacterianas del pescado, puede decirse que fue precisamente en ésta época cuando se pusieron los fundamentos de nuestros conocimientos actuales de microbiología del pescado. Desde entonces han sido constantes las mejoras en la metodología en la identificación y en la nomenclatura y taxonomía bacterianas. Por ejemplo, muchas bacterias que hasta 1957-58 se incluían en el género *Achromobacter* hoy se sabe que pertenecen a géneros distintos. Así, la última edición del **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology** describe como géneros independientes los siguientes:

Moraxella, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas* y *Alteromonas* que antes se incluían en el género *Achromobacter*.

La mayoría de los trabajos sobre microbiología del pescado se han realizado con pescados marinos de aguas frías y templadas, debido a que son los de mayor importancia comercial. En el caso de los pescados de agua dulce se sabe que, como en los marinos, su flora microbiana es similar a la de su entorno y a la del alimento ingerido.

El pescado marino fresco, recién capturado, posee una población microbiana constituida fundamentalmente por bacterias Gram negativas de los géneros *Pseudomonas*, *Ateromonas*, *Acinetobacter*, *Vibrio*, *Flavobacterium* y *Cytophaga* y dentro de las Gram positivas por el grupo corineforme y el género *Micrococcus*. La proporción de estos diversos géneros varía mucho;

la flora de la superficie externa viene determinada, como ya se ha dicho, por la del entorno del pescado y la del intestino por el alimento que ingieren.

Durante el almacenamiento en refrigeración las especies psicrófilas se multiplican rápidamente, invaden los tejidos e incluso, con el paso del tiempo, originan la descomposición del pescado. Los dos grupos, *Pseudomonas-Alteromonas* y *Moraxella-Acinetobacter*, se multiplican mucho más rápidamente que otras bacterias y en las últimas fases de la alteración suponen el 80% de la flora total. Cuando la carga total alcanza o supera el 10^6 microorganismos/gramo la descomposición se desarrolla rápidamente incluso a temperaturas de refrigeración. La velocidad a la que tiene lugar la descomposición del pescado depende de la velocidad de crecimiento de estos microorganismos que, a su vez, está condicionada por dos factores; temperatura y número de bacterias presentes.

Desde que se iniciaron los estudios de la flora microbiana del pescado, se procuró identificar y diferenciar los microorganismos del pescado fresco y los del alterado, con el fin de establecer cuales eran las bacterias "alterantes activas". Para ello se han utilizado diversas metodologías basadas en recuento de los "alterantes activos" o en la determinación de los productos metabólicos de estos microorganismos. Unas y otros han sido propuestas como índices de calidad. Experimentando con jugo estéril de lenguado se ha visto que a 5°C los alterantes más activos *Pseudomonas*, *Aeromonas* y *Vibrio*. También se ha visto que en el bacalao conservado en hielo, la alteración se acompaña de la aparición de olores "sulfurosos" debidos al H_2S , al metilmercaptan, al dimetilsulfuro y al dimetildisulfuro. Son varias las especies de *Pseudomonas* y *Alteromonas* que producen dichos compuestos. Asimismo, se ha demostrado que *Alteromonas (Shewanella) putrefaciens* es la responsable principal de la producción de TMA. Esta especie microbiana y otras que no citamos, utilizan el OTMA (además del O_2) como aceptor de hidrógeno; debido a esta propiedad algunos microorganismos no fermentadores crecen en los tejidos en condiciones microaerófilas o anaeróbicas. Por esta causa los tejidos del pescado se descomponen antes que los de otros animales que contienen menos OTMA.

Un hecho que han confirmado cuantos han estudiado la microbiología del pescado y de los mariscos de aguas tropicales conservados en hielo, es que su vida útil, en condiciones de refrigeración, es mayor que la de los pescados y mariscos de aguas templadas y subárticas. Como explicación de tal comportamiento se ha dicho que en los primeros se implanta antes una flora psicrófila que en los pescados de aguas tropicales.

En el *Int. J. Food Microbiol.*, (10, 1990, 303:316), Gram y colaboradores, del Laboratorio Tecnológico de Lyngby (Dinamarca), han reseñado los

resultados de sus estudios bacteriológicos con percas del Nilo (*Lates niloticus*). De la revisión bibliográfica concluyen que a temperatura ambiente (20-30°C) los peces de aguas dulces cálidas se alteran rápidamente, siendo incomedibles a las 11-17 horas después de su captura, pero recubiertos de hielo se mantienen en buen estado 4 semanas. Ello confirma que el pescado de aguas cálidas, conservado en hielo, presenta una vida útil más larga que la del pescado de aguas frías o templadas mantenido del mismo modo. Ninguna de las explicaciones dadas sobre este comportamiento (menor recuento psicrófilico inicial, flora alterante distinta y alteración de naturaleza no microbiana) les parecen convincentes a los autores citados. De ahí la razón de sus investigaciones, cuyos estados pueden resumirse así:

1. La flora bacteriana del pescado del Nilo recién capturado, está constituida por especies muy variadas de bacterias Gram positivas y Gram negativas que son muy parecidas a las encontradas en pescados de aguas frías y templadas, contrariamente a lo que en su día señaló Shewan, quien sostenía que los últimos presentaban un mayor porcentaje de Gram positivos.
2. Ninguna de las bacterias Gram positivas aisladas por Gram y colaboradores pudo clasificarse como "alterante activa", salvo una especie de *Aeromonas* que a temperatura ambiente fue la alterante dominante de la perca del Nilo.
3. Todas las *Aeromonas sp* estudiadas fueron hemolíticas y produjeron coloración verde, lo que posiblemente explica la aparición de este color en las branquias de los peces del Nilo en fase alterativa, mantenidos a temperatura ambiente. Posiblemente el pigmento verde sea sulfomioglobina producida al reaccionar la mioglobina con el H₂S producido por las bacterias.
4. Llama la atención que *Shewanella putrefaciens* no juegue un papel más importante en la alteración de la perca del Nilo, dado que en casi todos los trabajos publicados se considera que es la bacteria alterante más importante del pescado conservado en hielo.

En conclusión, la población microbiana de la perca del Nilo es **igual** que la del pescado marino de aguas frías o templadas, si bien presenta un mayor predominio de especies Gram positivas que los pescados marinos. A **temperatura ambiente** (20-30°C) las aeromonadales son las alterantes principales debido a su capacidad de producción TMA y de H₂S. En **hielo** se favorece el desarrollo de los bacilos Gram negativos, sobre todo *Pseudomonas sp*.

La alteración de este pescado no se caracteriza por el predominio de la producción de TMA y H₂S.

También se ha dicho que la mayor duración de la vida de almacén de los pescados planos (lenguado, etc.) frente a los fusiformes (bacalao) se debe a la actividad antimicrobiana de la mucosidad de la piel. Por ejemplo, en platijas se ha puesto de manifiesto una potente lisozima inexistente en el mucus del bacalao.

La flora bacteriana de los mariscos recién capturados es semejante a la del pescado; varía en algunos detalles de unas especies a otras, pero los principales grupos detectados son: *Micrococcus*, corineformes, *Moraxella*, *Acinetobacter* y *Pseudomonas* y un menor número de *Flavobacterium*, *Cytophaga* y *Bacillus*. En los cangrejos de río la bacteria alterante más activa es *Pseudomonas sp.*

Lo mismo que en el caso del pescado, los mariscos de aguas tropicales tienen una vida útil mayor que los de aguas frías y templadas. Si bien todos tienen cualitativamente la misma flora microbiana, el efecto del hielo es mayor en los mariscos tropicales; según Shewan ello se debería a que la flora residente del marisco tropical sería fundamentalmente mesófila, mientras que la de aguas frías y templadas estaría constituida predominantemente por psicrófilos; por ello la vida útil de los mariscos tropicales sería más larga.

Se han estudiado los efectos del procesado de los mariscos en su flora alterativa y patógena humana. En general los recuentos caen durante el lavado, cocción y congelación, aumentando durante la manipulación, pelado, rebozado y empaquetado. La recontaminación posterior a la cocción fue rápida y alta en la mayoría de los procesos. En gambas y cangrejos procesados se desarrollaron bien *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Flavobacterium* procedentes de marisco fresco sin procesar. *Arthrobacter* (corineformes) y *Bacillus*, originarios también del marisco fresco crudo, no se desarrollaron bien durante el almacenamiento. *Micrococcus*, *Staphylococcus* y *Proteus* tampoco proliferaron durante el almacenamiento. Si bien la cocción destruye la mayoría de las bacterias del marisco, su recontaminación da lugar a que los recuentos alcancen pronto, o incluso superen, la contaminación inicial. La situación bacteriológica de estos productos depende en gran parte de la higiene de la línea de procesado, como se deduce de la disminución de la población bacteriana al mejorar las condiciones higiénicas del proceso.

Pescado separado mecánicamente o pasta de pescado

Desde hace un par de décadas, se utilizan separadoras mecánicas para conseguir el máximo aprovechamiento de la carne del pescado consumido regularmente y sobre todo para utilizar ciertas especies de pescado cuyo aprovechamiento para alimentación humana se consideraba antieconómico.

De hecho y como sucede con la carne de mamífero y aves, el pescado picado presenta ciertas particularidades alterativas que lo diferencian del pescado entero o fileteado refrigerado. El pescado picado es la base de algunos preparados alimenticios tradicionales como pastas, “Kamaboko” y desde no hace mucho, embutidos de pescado. De acuerdo con los resultados de muchos investigadores, la carne de pescado separada mecánicamente, independientemente de que proceda de los restos de fileteado o de pescado descabezado y eviscerado, presentan una carga microbiana diez veces mayor que la del producto fresco entero. El pescado picado, incluso el de buena calidad inicial, tiene una vida de almacén a temperaturas de refrigeración muy corta, siendo lo normal conservarlo en congelación.

En Japón, el pescado picado se transforma en un producto estable al convertirlo en embutidos. Los embutidos constan de pescado picado (pasta) y además, de almidón, tocino, gelatina, aromatizantes y especias. Su estabilidad se debe al efecto pasterizante de los distintos tratamientos térmicos que se le aplican (80-90°C durante 40-60 minutos), al efecto de los conservantes permitidos, a la acción de las especias y a la barrera que suponen las tripas a la penetración microbiana. La forma más corriente de alteración de este producto se debe al género *Bacillus*, responsable también del ablandamiento del “Kamaboko”, a donde llega con la fécula de patata.

Se ha comprobado que durante la separación y el picado del pescado la carga microbiana aumenta rápidamente a no ser que se observen medidas higiénicas muy estrictas. Posiblemente ello es consecuencia de la íntima mezcla de la carne con las bacterias de la piel y de la liberación de nutrientes por la ruptura de las células tisulares.

Procesado y almacenamiento en congelación

La conservación del pescado por congelación y su distribución mediante una eficiente cadena de frío ha permitido en los últimos 30 años que en poblaciones muy alejadas de la costa se disponga en todo tiempo de excelentes productos pesqueros. La mayoría de las alteraciones del pescado congelado

se deben al empleo de una materia prima deficiente, a la deshidratación y oxidación grasa, durante el almacenamiento, o a una manipulación deficiente durante la distribución.

La congelación destruye una parte de la carga microbiana, el almacenamiento en congelación y la descongelación también disminuyen, aunque mucho menos llamativamente, la población bacteriana; no obstante, su efecto total en los recuentos microbianos, es escaso a juzgar por su influencia en la alteración del pescado descongelado. La alteración del pescado descongelado sigue un curso similar al del pescado refrigerado: Una vez que el pescado se ha descongelado, si las condiciones en que se encuentran son adecuadas para el crecimiento microbiano, el tiempo requerido para que la población bacteriana alcance el mismo nivel que el del pescado fresco es relativamente breve.

Prescindiendo de los efectos del pH, concentración salina, a_w , choque frío, etc. en la supervivencia y crecimiento microbianos a baja temperatura, diremos que la células bacterianas resistentes a la congelación y descongelación están metabólicamente lesionadas y son más difíciles de cultivar que la flora original, por lo que a menudo los recuentos encontrados no reflejan la población bacteriana real del producto.

Cuanto se han ocupado de la microbiología del pescado congelado a bordo concuerdan en que la carga de este alimento, una vez descongelado, es semejante a la del pescado fresco de gran calidad, siempre, claro está, que sean muy estrictas la limpieza e higiene observadas.

Salazón y fermentación

La conservación del pescado por la sal o por ésta y un proceso fermentativo, se viene practicando desde la más remota antigüedad. Mientras en Europa se ha utilizado casi exclusivamente la salazón, en los países del lejano Oriente han desarrollado diversos métodos de conservación del pescado por fermentación.

Los microorganismos desempeñan diversos papeles en los distintos procesos fermentativos y frecuentemente con ellos se busca obtener un cierto grado de degradación proteica y la consecución de determinados aromas; cuando esto no es así, el producto se considera alterado. De todos modos, no siempre es fácil establecer una neta separación entre producto fermentado comestible y producto alterado, ya que a menudo tal distinción es totalmente subjetiva: Un aroma considerado agradable en una región o país puede considerarse en otra propio de un producto alterado y con frecuencia la alteración no es otra cosa que una “sobremaduración o sobrefermentación”.

Durante el proceso fermentativo tiene lugar la hidrólisis de las proteínas del pescado a péptidos y aminoácidos y la conversión de los últimos en otros compuestos, algunos de los cuales tienen un aroma muy pronunciado. Los productos terminados varían mucho en su aspecto, desde pescado entero a pastas y salsas. Su conservación se basa en la disminución de la a_w por la sal, el azúcar y la desecación, y en la disminución del pH que actúa concomitantemente.

En Europa, los productos de esta clase son los desecados y salados y los escabechados; para los primeros se emplean pescados magros y para los segundos, grasos. La flora microbiana del producto terminado procede del propio pescado, de la sal y de los componentes de la salmuera. Puesto que la flora alterativa Gram negativa normal del pescado es halófila, va siendo sustituida por otra de la que forman parte micrococcos, levaduras, baciláceas, bacterias lácticas y mohos y que se caracteriza por ser halofílica o halotolerante. Dado que es una flora esencialmente halófila, Gram positiva y mesófila creará muy pocos problemas si los productos se mantienen a 5°C o menos. A temperaturas más altas, o si en procesado ha sido deficiente, el deterioro se presenta rápidamente. Asimismo cuando la concentración de sal del pescado es escasa, se produce la alteración que corre a cargo de las bacterias deteriorantes corrientes.

En otros casos la alteración se debe a bacterias o a mohos halófilos obligados. Las primeras originan el “rosado o rojo del bacalao” y los segundos el “obscurecimiento”.

Las bacterias productoras del rosado son muy proteolíticas, su temperatura óptima está entre 35-40°C aunque crecen entre los 5 y los 50°C a pHs comprendidos entre 6 y 10. Son halófilas obligadas y se desarrollan en salmueras saturadas. Como productos metabólicos asociados a esta alteración se han detectado H_2S e indol. Las más características, aunque su clasificación taxonómica no sea definitiva, son *Halococcus morhuae* y *Micrococcus halodenitrificans*, que comprende todas las formas esféricas y *Halobacterium salinarum* y *H. cutirubrum* en las que se distribuyen las formas baciláceas.

Los mohos halofílicos productores del obscurecimiento son *Hemispora stellata* (antes *Sporendonema*) y *Oospora sp.* Contrariamente a las bacterias, ni descomponen el pescado, ni producen olores extraños, pero por el color que originan le dan mal aspecto.

En algunos países del sureste asiático las pastas y salsas de pescado son productos de gran importancia. La mayoría de estos productos se elaboran sin adicionarles cultivos iniciadores ni carbohidratos, el proceso tiene lugar, bajo la acción de la sal, gracias a la flora que se desarrolla naturalmente. Forma parte de esta flora *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, *Pseudomonas*, *Serratia* y a veces *Clostridium* y levaduras.

Ahumado

El ahumado es un proceso tradicional de conservación del pescado en el que están implicados cuatro procesos básicos: salado, desecación, calentamiento y humo; todos ellos influyen en la población microbiana durante el procesado y almacenamiento posterior. Jugando con estos cuatro procesos y empleando diversos tipos de pescado se elaboran muchísimos productos diferentes.

Las bacterias Gram negativas son muy sensibles a los efectos de la sal, del humo, del calor y de la desecación. En los productos ligeramente ahumados, el proceso influye muy poco en la flora del pescado y durante el almacenamiento se desarrolla una población alterante típicamente Gram negativa; si el ahumado es más intenso desaparece esta flora y se desarrolla otra Gram positiva; finalmente los ahumados más intensos originan un producto casi estéril.

MICROBIOLOGÍA DE LA LECHE CRUDA

Como la carne y el pescado la leche tiene una composición muy apta para el desarrollo microbiano.

Incluso cuando se obtiene en condiciones de asepsia la leche contiene siempre microorganismos: unos 5×10^4 a 5×10^6 por ml. Están constituidos por contaminantes procedentes del entorno de la ubre, del equipo de ordeño y de los operarios. Son muy variados y entre ellos se han señalado *Pseudomonas*, *Acinetobacter/Moraxella*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* y coliformes. Además las ubres infectadas pueden presentar bacterias causantes de toxiinfecciones en el hombre. Aproximadamente entre el 40-50% de las explotaciones vacunas lecheras presentan mastitis.

Dado que la leche es un medio de crecimiento ideal para las bacterias, debe enfriarse tan rápidamente como sea posible. La introducción en las granjas de tanques de refrigeración de la leche y su recolección en cisternas refrigeradas ha mejorado mucho la calidad bacteriológica de la leche cruda, ello se ha traducido en la disminución de la leche alterada por acidificación, proceso en el que las bacterias lácticas que crecen a temperaturas mayores de 10°C originan ácido láctico a partir de la lactosa, lo que da lugar a un sabor ácido y a la coagulación de la leche. La mayoría de estas bacterias se destruyen por pasteurización aunque unas pocas son termodúricas (por ejemplo, *Strentococcus thermophilus*) y pueden ocasionar problemas después de la pasteurización.

Al enfriar y refrigerar rápidamente la leche los problemas son algo distintos: Ahora son los psicrotrofos, sobre todo *Pseudomonas*, los principales

responsables de la alteración. Las bacterias psicrotrofas que proceden del suelo y del agua, se aíslan con frecuencia del equipo de ordeño y de la granja y de las cisternas de transporte. La refrigeración deficiente o el retraso en el enfriamiento de la leche aumenta mucho la proporción de psicrotrofos; su crecimiento también continúa, aunque mucho más lentamente, a las temperaturas recomendadas para el almacenamiento de la leche cruda (3-7°C). En los tanques de almacenamiento sus recuentos suelen ser de 10^4 - 10^6 o más por dm^2 . Una gran proporción de los mismos produce proteasas y lipasas muchas de las cuales no son afectadas por la pasterización. Entre los defectos que producen se incluyen amargor y gelación, siendo el principal efecto deteriorante de las lipasas el enrarecimiento lipolítico.

La pasterización consiste en calentar la leche a una temperatura lo suficientemente alta para destruir todas las bacterias patógenas como *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella*, *Salmonella* y otras, junto con la mayoría de las alterantes, por lo que aumenta la vida útil de la leche.

Las bacterias que resisten la pasterización debido a su termorresistencia innata se conocen como "termodúricas". A ellas pertenecen unas pocas especies de *Streptococcus* (*Str. Thermophilus*), *Micrococcus* (*M. luteus*) y *Corynebacterium* (*C. Lacticum*), junto con esporas de *Bacillus* y en especial *B. cereus*. La alteración de la leche pasterizada mantenida a temperatura ambiente se debe principalmente a las bacterias termodúricas, siendo corrientemente *B. cereus* el que predomina en este tipo de alteración. Origina la llamada "nata amarga" y es el responsable del "cortado dulce" de la leche pasterizada, (esto es, de la coagulación por renina sin formación de cuajada ácida).

La leche tratada a temperatura ultraalta (UHT) es leche homogeneizada, sometida a una temperatura de 132°C, durante un segundo como mínimo, proceso que convierte la leche en prácticamente estéril. Antes la leche se esterilizaba en botellas herméticamente cerradas que se sometían a 100-120°C durante 30 minutos. Esta leche presentaba sabor a cocida, textura muy cremosa y un aspecto oscuro que la hacía muy poco atractiva. Esto no ocurre con la leche UHT que se envasa en condiciones de asepsia en recipientes especiales de cartón laminado que después se cierran al calor. Su aspecto, aroma y calidad nutritiva son comparables con la pasterizada y permanece en condiciones aceptables varios meses sin necesidad de refrigeración.