

INVESTIGACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS CON INGREDIENTES CRÍTICOS SUMINISTRADOS EN COMEDORES UNIVERSITARIOS

Investigation on the microbiological quality in foods with critical ingredients provided from university dining-rooms

Caro Vergara, M.^a R. y Cuello Gijón, F.*

* Microbiología e Inmunología. Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

Recibido: 27 enero
Aceptado: 23 junio

RESUMEN

Se ha investigado la calidad microbiológica en 32 muestras de alimentos con ingredientes críticos (ensaladas con mayonesa).

El muestreo ha sido realizado en cuatro comedores universitarios de Murcia, siendo los microorganismos investigados: microorganismos aerobios mesófilos revivificables a 37 °C, coliformes totales, *E. coli*, *E. coli* enteropatógeno, Enterococos, *S. aureus* enterotoxigénico, *C. perfringens* y *Salmonella spp.*

Los resultados revelan valores superiores a los permitidos por las normas consultadas para: aerobios mesófilos revivificables a 37 °C (25%), coliformes totales (21,87%), enterococos (18,75%), *C. perfringens* (6,25%) y *S. aureus* enterotoxigénico (43,75%).

Estos alimentos son potencialmente peligrosos y se considera deben ser suprimidos en los comedores investigados, existiendo un problema de salud pública que debe ser resuelto.

Palabras clave: calidad microbiológica, alimentos, comedores.

ABSTRACT

Microbiology quality of 32 meals with critical ingredients (mayonnaise) provided from four university dining-rooms in Murcia was investigated. Results indicate contamination values with mesophilic aerobes (25%); total coliforms (21,87%); enterococci (18,75%); *C. perfringens* (6,25%) higher than those permitted through regulations. These meals are potentially hazardous and it is concluded that must be omitted in the dining-rooms investigated, that is, there is a problem of public health that must be solved.

Key words: microbiology quality, food, university dining-rooms.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento del alimento implicado en un brote de enfermedad alimentaria es de gran importancia a la hora de confirmar la etiología de un proceso y así poder establecer la adecuada relación causa-efecto. En este sentido la OMS

(1968), establece una serie de grupos de alimentos según criterios de peligrosidad potencial a la hora de transmitir microorganismos patógenos, clasificación que tiene en cuenta el tratamiento culinario de los mismos en el momento de su consumo.

Los platos que incluyen como ingredientes,

mayonesas, salsas y cremas para repostería, constituyen un factor de alto riesgo implicado en brotes de toxiinfecciones alimentarias (BANWART, 1982; MARTH, 1981).

El análisis microbiológico de los productos destinados al consumo colectivo permite evaluar, desde un punto de vista sanitario, la importancia de posibles contaminaciones durante la preparación del alimento, transporte y manipulación, ejerciéndose de esta forma un control sobre los propios locales destinados a su elaboración.

La situación higiénica, sanitaria y de las condiciones técnicas de servicio de los establecimientos del sector de la Restauración genera frecuentemente la preocupación de los usuarios. Las intoxicaciones y toxiinfecciones alimentarias, como señala BRYAN (1978), tienen su origen en un elevado porcentaje de ocasiones en establecimientos en los que se sirven y preparan comidas; en los últimos años en nuestro país se ha observado una gran proliferación de comedores universitarios. Los alimentos servidos en estos establecimientos presentan los mismos riesgos y problemas, considerando de interés sanitario el estudio de su calidad microbiológica, al objeto de tener una base científica para poder realizar un control eficaz de los mismos y de esta forma prevenir en lo posible un gran número de enfermedades de tipo alimentario en la población estudiantil.

MATERIAL Y MÉTODOS

Hemos realizado un estudio en alimentos con ingredientes críticos, definiéndolos como: «aquellos que llevan en su composición cualquier producto que suponga o pueda suponer un riesgo para el consumidor», encuadrando en esta categoría a la ensalada con mayonesa.

El muestreo ha sido realizado en cuatro comedores universitarios de Murcia, siendo las muestras investigadas 32.

La recogida de muestras se llevó a cabo tomando el alimento con cucharilla estéril y colocándolo en un recipiente, igualmente estéril, para su traslado al laboratorio en nevera portátil a una temperatura de 4 °C.

El procesado de la muestra se hizo pesando en condiciones asépticas 10 gramos del alimento que se suspendió en 90 ml de agua de peptona al 0.1%.

Esta suspensión se somete a homogeneización en Stomacher (Lab. Blender. Mod. 400) durante 2-3 min.

A partir de esta dilución inicial, se prepararon diluciones sucesivas de factor 10 hasta 10⁵; dentro de los 30 min siguientes y con objeto de

que la carga microbiana sufra la menor alteración posible, se efectúan las siembras en los diferentes medios de cultivo.

Los microorganismos investigados fueron: Microorganismos aerobios mesófilos revivificables a 37 °C, utilizando la técnica y medios de cultivo recomendados por la APHA (1976) al igual que para coliformes totales y *E. coli*, donde seguimos el procedimiento del NMP (Número Más Probable) y la prueba de IMVIC para este último (MOSSEL y VEGA, 1973), siendo los tiempos y temperaturas de incubación 48 h a 37 °C y 24 h. a 44.5 °C respectivamente.

Para la investigación de *E. coli* enteropatógeno procedimos a la realización de la técnica de anticuerpos fluorescentes, disponiendo de 5 antisueros polivalentes conjugados con isotiocianato de fluoresceína (A, B, C, D y E). (EDWARDS y EWING, 1971).

En la investigación de enterococos hemos utilizado la técnica del N.M.P., siguiendo el mismo protocolo indicado para el caso de coliformes y empleando como medio de cultivo caldo con dextrosa y azida sódica para la prueba presuntiva y caldo con azida sódica y violeta de etilo para la prueba confirmativa, incubando a 35 °C durante 48 h en ambos casos (LARKIN et al., 1956).

Para la determinación de *C. perfringens*, el medio utilizado fue el agar triptosa sulfito neomicina según MARSHALL (1965), incubando las muestras a 46 °C durante 24 h.

El recuento de estafilococos se realizó sembrando las diluciones 10¹ y 10² por duplicado sobre la superficie de agar de Baird Parker, recomendado por el C.E.N.A.N. (1982) posteriormente las muestras fueron incubadas a 37 °C durante 48 h; después de realizar el recuento se procedió a la confirmación de las colonias para lo cual se realizaron las pruebas de la coagulasa, fosfatasa y Dnasa (BUTTIAUX, 1974; F.D.A., 1976).

En la investigación de *Salmonella* spp. se partió de una suspensión de 25 g de la muestra en 225 ml de caldo lactosado como medio de preenriquecimiento (HOBEN et al., fide POZO et al., 1980), a partir de aquí se utilizó como medio de enriquecimiento selectivo, el caldo dulcitol selenito (POZO et al., 1980), incubando a 35 °C durante 24 h y como medios diferenciadores el agar lactosado con verde brillante, agar con sulfito de bismuto, agar triple azúcar hierro y agar SIM (SH₂, indol y movilidad), estos últimos para observar el comportamiento bioquímico, siendo la temperatura de incubación de 37 °C durante 24 h excepto en el caso del agar sulfito de bismuto, en donde el tiempo de incubación fue de 48 h.

Los resultados se expresan como presencia o ausencia de salmonella en 25 g de alimento.

En todos los casos se ha utilizado como medio de cultivo los de Difco.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En nuestra investigación nos hemos basado en la reglamentación española (B.O.E., 1977, 1983) y en la reglamentación francesa (DRAGONI, 1984). Los límites microbiológicos establecidos figuran en el cuadro 1.

En la investigación de microorganismos aerobios mesófilos revivificables a 37 °C, el 25% de las muestras analizadas no cumplieron el límite microbiológico establecido por la legislación vigente (1×10^5 u.f.c.), siendo los recuen-

tos elevados, si se tiene en cuenta que el mantenimiento del alimento en refrigeración tras su elaboración y un rápido consumo, es fundamental para obtener una aceptable calidad higiénica y microbiológica del mismo. En cuanto a coliformes totales, están muy relacionados los resultados con los obtenidos para aerobios mesófilos, presentándose en un 21'87% de las muestras investigadas recuentos superiores a la norma consultada.

Estos valores, si bien no alarmantes, demuestran la escasa atención que se presta a las normas de higiene en la elaboración de estos productos estando expuestos a unas temperaturas de mesofilia, donde los organismos coliformes crecen fácilmente; porcentajes similares obtienen OCKERMAN y STEC (1980); en ninguna de las muestras investigadas se identificó *E. coli* enteropatógeno ni gérmenes del género *Salmonella*.

En la investigación de enterococos el 18'75% de las muestras superaban el recuento establecido por la legislación (1×10^3 gérmenes/g).

Respecto a *C. perfringens*, si bien su presencia no ha sido elevada, se ha detectado en el 6'25% de las muestras investigadas, lo que no está permitido por la legislación.

En cuanto a la investigación de *S. aureus* enterotoxigénico, hemos detectado presencia del microorganismo con valores superiores a la norma consultada (10 u.f.c./g), en el 43'75% de las muestras investigadas.

Nuestros resultados revelan valores, en lo que se refiere a la presencia del microorganismo, muy superiores a los obtenidos por otros autores para este tipo de productos (DESMET et al., 1981; HARTOG et al., 1979), los cuales proponen la ausencia del germen en estos productos como norma a seguir.

Consideramos elevados los resultados obtenidos en alimentos con ingredientes críticos y con riesgo en cuanto a la posibilidad de presentación de intoxicación alimentaria, debido fundamentalmente a la propia composición del plato como medio ideal de cultivo y al excesivo número de manipulaciones y temperaturas a las que son expuestos. Todos estos factores favorecen el desarrollo microbiano.

En particular, dado el alto índice de contaminación por *S. aureus* en los alimentos investigados, consideramos que dicho ingrediente comporta un riesgo para la salud de los consumidores de la población estudiantil, por lo que aconsejamos se debería restringir al máximo posible su utilización en los comedores universitarios.

CUADRO 1
LÍMITES ESTABLECIDOS PARA LOS
MICROORGANISMOS INVESTIGADOS

MICROORGANISMO	A.C.I.C.R. (Comida consumida en frío)
Recuento colonias aerobias mesófilas (1) (u.f.c./g)	1×10^6
Coliformes totales (2) (gérmenes /g)	1×10^3
<i>E. coli</i> (1) (gérmenes/g)	1×10^1
Enterococos (3) (gérmenes/g)	$< 1 \times 10^3$
<i>Salmonella</i> (1)	ausencia en 25 g
<i>S. aureus</i> ent. (1) (u.f.c./g)	$< 1 \times 10^1$
<i>C. perfringens</i> (1)	ausencia/g

A.C.I.C.R. = Alimentos con ingredientes críticos.
u.f.c. = Unidades formadoras de colonias.

- (1) Reglamentación Técnico Sanitaria de Comedores Colectivos.
- (2) Reglamentación Francesa para platos precocinados y cocinados.
- (3) Normas Higiénico Sanitarias para la instalación y funcionamiento de industrias dedicadas a la preparación y distribución de comidas en colectividades y medios de transporte.

CUADRO 2
**RESULTADOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN MICROBIOLÓGICA DE ALIMENTOS
 CON INGREDIENTES CRÍTICOS**

MICROORGANISMO	RANGO	MEDIA	INTERVALO	%
Aerobios mesófilos (1)	$<3 \times 10^2 - 35 \times 10^7$	2.9×10^6	(60,90)	25
Coliformes totales (2)	0 - +1800	67.36	(64-92)	21.87
<i>E. coli</i> (2)	0 - 2	0.06	—	—
Enterococos (2)	0 - +1800	29.7	(77.95)	18.75
<i>C. perfringens</i> (1)	0 - 1×10^1	1.5	(85.100)	6.25
<i>S. aureus</i> ent. (1)	0 - 96×10^1	87.28	(39,79)	43.75

(1) U.F.C. = Unidades formadoras de colonias.

(2) N.M.P. = Número Más Probable/jg

(%) = Porcentaje de alimentos que no cumplen los límites microbiológicos establecidos por las Normas consultadas.

NOTA: Intervalos de confianza asociados a las proporciones estimadas a partir de las muestras que cumplen la legislación.

BIBLIOGRAFÍA

- APHA (American Public Health Association), 1976. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Ed. APHA, Washington.
- BANWART, G. J. 1982: Microbiología básica de los alimentos. Ed. Anthropus, Barcelona.
- B.O.E. 1977: Normas higiénico-sanitarias para la instalación y funcionamiento de industrias dedicadas a la preparación y distribución de comidas para consumo de colectividades y medios de transporte. N.º 59 (10 de marzo), Madrid.
- 1983: Reglamentación técnico sanitaria de comedores colectivos. N.º 270 (11 de abril de 1983), Madrid.
- BRYAN, F. L. 1978: Factors that contribute to outbreaks of food-borne disease. J. Fd. Prot. 41: 816-827.
- BUTTIAUX, A. 1974: Manuel du techniques bacteriologiques, 4.ª ed. Flammarion, Paris.
- C.E.N.A.N. 1982: Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos y bebidas del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. Ed. Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid.
- DESMET, L.; GOBLET, J.; JACMAIN, E.; THEATE, G.; IDE, M. 1981: Enqueté sur la qualité bacteriologique des repas pris en collectivité. Rev. Ferment. Industr. Alim. 36: 160-163.
- DRAGONI, I. 1984: Standards igienici nella ristorazione collettiva e commerciale. Ristor. Collect. 10: 126-131.
- EDWARDS, P. R. y EWING, W. H. 1971: Identification of Enterobacteriaceae, 3rd. Ed., Burgess Pub. Co.

- F.D.A. (Food and Drug Administration). 1976: Bacteriological Analytical Manual for Foods. Association of Official Analytical Chemistry. Washington D.C.
- HARTOG, B. J.; JANSEN, J. T.; NOOITGEDAGT, A. J. 1979: Microbiological quality of dessert products manufactured industrially and in restaurants and confectioneries (in The Netherlands). A report of the group of microbiologist of the Dutch Food Inspection Service. Working Group Microbiological Specifications.
- LARKIN, E. P.; LITSKI, W.; FULLER, J. E. 1956. Incidence of fecal streptococci and coliform bacteria in frozen fish products. Amer. J. Publ. Hlth. 46: 464-468.
- MARSHALL, R. S. 1965: Rapid technique for the enumeration of *C. perfringens*. App. Microbiol. 13: 559-563.
- MARTH, E. H. 1981: Foodborne hazards of microbial origin. Ed. Howards Roberts, New York.
- MOSSEL, D. A. A.; VEGA, C. L. 1973: The direct enumeration of *E. coli* in water using Mc. Conkey's agar at 44 ° in plastic pouches. Hlth. Lab. Sci. 10: 303-307.
- OCKERMAN, H. W.; STEC, J. 1980: Total plate and coliform counts for fast food service sandwiches. J. Fd. Sci. 45: 262-266.
- OMS. 1968: Comité de expertos de la OMS en aspectos microbiológicos de la higiene de los alimentos. Informe Técnico 399, Ginebra.
- POZO, R.; HERRERA, A.; POLO, L. M. 1980: Calidad microbiológica de canales de aves, conejos y otros productos cárnicos. Rev. San. Hig. Public. 11:1-11.