

MICROBIOLOGIA DE PRODUCTOS PESQUEROS (I)

Ing. María Estela Ayala Galdos
Instituto Tecnológico Pesquero del Perú
mestela@itp.org.pe

GENERALIDADES

El marco general del tema microbiología de productos pesqueros se enfoca al ámbito del pescado, su flora propia relacionada especialmente con la del agua, la que adquiere del medio ambiente y por efecto del procesamiento aplicado. Los problemas de inocuidad en alimentos, están relacionados con la materia prima utilizada, el tratamiento tecnológico empleado, la aplicación de buenas prácticas de manipuleo e higiene. De manera no menos importante se encuentra el tema de la contaminación ambiental y el manejo de residuos del procesamiento. Lo anterior sumado a la evidencia epidemiológica permite establecer la condición del alimento respecto a representar un riesgo a la salud pública y finalmente, establecer criterios microbiológicos.

Luego de su captura, en el pescado se producen desequilibrios metabólicos más o menos intensos, entre otros, la diferencia de temperatura entre el hábitat y el medio ambiente externo, cambios sucedidos por el deterioro enzimático, el cual precede el ablandamiento e hidrólisis de tejidos facilitando el sustrato para el desarrollo microbiano. Debido a que estas acciones tienen una relación directa con la temperatura, el uso del hielo en pesquería es una premisa.

Por otro lado, los problemas de contaminación cruzada o el almacenamiento deficiente, inciden en un mayor recuento total de microorganismos, incrementando el riesgo de deterioro. En este sentido es importante el cuidado de las condiciones y facilidades para la eliminación de residuos, la cantidad y calidad de agua utilizada, las condiciones higiénicas de los manipuladores, utensilios y el uso de desinfectantes, que resultan factores decisivos para reducir, aumentar o diseminar la carga microbiana en el producto. El establecimiento de tenores microbiológicos referenciales es de gran utilidad para la identificación de zonas de trabajo críticas, así como la eficiencia de los desinfectantes utilizados, para mantener la higiene del producto bajo control.

En el caso de operaciones que precisan del control de la temperatura y de la velocidad de las operaciones durante el procesamiento, el crecimiento o multiplicación de los microorganismos puede ser reducido según sea el rigor del control ejercido. El cumplimiento de los requisitos mínimos de higiene dentro de una planta adecuadamente instalada, permite que se cumplan con facilidad las normas internacionales, estándares y recomendaciones microbiológicos aceptables para alimentos. Además de la contaminación cruzada, la contaminación posterior muy frecuente generalmente a nivel de comerciante o manipulador de alimentos es un tema de salud pública.

La estabilidad microbiana y seguridad de alimentos se basa en una combinación de diversos factores (obstáculos o barreras) que no deben ser sobrepasados por su carga microbiana; lo que se conoce como efecto-barrera que es de fundamental importancia para la preservación de alimentos porque controla el deterioro microbiano, crecimiento de patógenos e inclusive los procesos de fermentación. Las interacciones complejas de temperatura, actividad de agua, pH, potencial redox, etc., son significativas para la estabilidad microbiana de los alimentos.

Otros microorganismos importantes son los virus, unidades pequeñas de ARN que constituyen un riesgo creciente y son causantes de brotes infecciosos transmitidos por agua y alimentos, siendo los ambientes marinos una fuente importante; su determinación requiere metodologías costosas y extremadamente delicadas (cultivos celulares) que restringen la velocidad de desarrollo de su investigación, si se compara al similar en bacterias.

Bajo el marco conceptual que es la presencia de microorganismos el factor que condiciona la estabilidad e inocuidad de los alimentos, presentamos el tema "Microbiología de Productos Pesqueros", en el que en una primera entrega describirá los aspectos microbiológicos relacionados a los efectos de la aplicación de diversas tecnologías, mientras que en una segunda entrega se describirán asuntos de inocuidad de los alimentos pesqueros relacionados a la presencia de bacterias patógenas nativas o integradas por diversos vectores.

PRODUCTOS FRESCOS

El músculo de pescado fresco es estéril. La flora mayoritaria está determinada en principio por la temperatura del agua de procedencia. Su distribución es menor en su superficie y mayor en las branquias e intestinos y se disemina en el músculo desde el interior (flora intestinal) y a través de la piel, con mayor facilidad si el animal presenta el estómago lleno y la integridad de los tejidos ha sido afectada por el manipuleo brusco y la autólisis enzimática. Desde el punto de vista tecnológico y sanitario, más importante que el tipo de flora es conocer el daño que esta ejerce sobre el producto.

La diferencia de recuentos totales entre especies de aguas limpias y de ambientes contaminados puede fluctuar entre un rango de 10² a 10⁷ UFC/g. En zonas de elevada densidad poblacional y

con problemas de contaminación, el pescado suele contener elevados recuentos pero de grupos mesófilos típicos en humanos tales como *E. coli*, *Staphylococcus* spp. En peces marinos, los hongos y levaduras de estar presentes no constituyen la flora mayoritaria y su presencia se considera de bajo riesgo en la transmisión de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA). En el caso de mariscos, por ser la mayoría de estos filtradores y acumuladores, los análisis microbiológicos deberán enfocarse más que el recuento total, la presencia o número de patógenos, actualmente es de práctica común la ejecución de análisis de virus para estos organismos. Las especies capturadas en mares fríos presentan bacterias abastionadas y mayormente gram negativo psicrófilas. La flora de especies de aguas templadas puede ser psicrótrofa y psicrófila, Gram (-) abastionadas (*Pseudomonas*, *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Shewanella*, *Flavobacterium*); en la familia *Vibrionaceae*, que agrupa *Aeromonas*, *Photobacterium* y *Plesiomonas*, unas 12 especies del género *Vibrio* son asociadas a infecciones gastrointestinales, especialmente *V. cholerae*. Entre los Gram (+), *Bacillus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* se encuentran mayormente en branquias e intestinos. En aguas tropicales la flora predominante es mesófila (generalmente formas bacilares y cocos Gram (+)). En especies de agua dulce, se conoce de reportes de coliformes, *E. coli* y psicrótrofos en especies de tilapia de Brasil e inclusive psicrótrofos, hongos y levaduras.

En pescado fresco la carga microbiana es baja y la forma y pigmentación de las colonias es variada, si el recuento es elevado y los tipos de colonia son uniformes, ello indica contaminación microbiana de varias fuentes; si el recuento es elevado y los tipos de colonia son uniformes, se puede presumir crecimiento microbiano o descomposición; recuentos bajos y pocos tipos de colonias usualmente reflejan el efecto de la aplicación de algún tratamiento antimicrobiano. En estudios sobre microbiología de especies de la costa peruana se ha determinado una microflora mayoritariamente psicrófila correspondiente a los géneros *Acinetobacter*, *Achromobacter* y *Moraxella* seguidos por *Pseudomonas* spp y los grupos *Flavobacterium* y *Aeromonas*. La especie *Vibrio alginolyticus* es la más distribuida en invierno y en verano predomina *Vibrio cincinnatiensis*.

PRODUCTOS REFRIGERADOS Y CONGELADOS

La evaluación de las alteraciones en estos productos está dirigida principalmente a aspectos de frescura y toma en cuenta la actividad de microorganismos responsables del desarrollo de olores y sabores característicos de la pérdida de frescura. En productos refrigerados y congelados los responsables del deterioro son Gram (-) psicrótrofos, *Pseudomonas* spp, que desarrollan olores amoniacales y ácidos derivados de los ácidos grasos de cadenas menores, en tanto que los géneros *Aeromonas* y *Shewanella* producen olores fuertemente amoniacales y pútridos. Durante el almacenamiento en refrigeración o congelación, la flora microbiana sufre transformaciones, se reduce la flora mesófila y se propicia el desarrollo de psicrófilos (en su mayoría grupos de *Pseudomonas*). Los productos congelados a base de pescado desmenuzado presentan los mismos problemas de deterioro que los bloques de filete congelado, pero si la contaminación exógena es elevada, la temperatura de congelación determina un descenso inicial del recuento total que puede mantenerse o aumentar según lo permitan las condiciones de almacenamiento y descongelación. Algunas bacterias de contaminación exógena pueden resistir temperaturas bajas (*Salmonella*) y cuando el producto es descongelado pueden volver a hacerse viables y multiplicarse, para permanecer como parte de los microorganismos de la flora del producto final, además, en caso de haber formado toxinas, el riesgo se mantiene. Es importante destacar que la composición de los medios de cultivo y la temperatura de incubación pueden marcar diferencia en la recuperación de recuentos y grupos bacterianos. Por ejemplo, el uso de agar agua de mar resulta más eficiente al evaluar la flora psicrófila que el uso de agar estándar.

PRODUCTOS A BASE DE PULPA DE PESCADO

Al curso de la preparación del pescado picado, como en el caso del surimi y kamaboko, es frecuente la introducción de gérmenes de contaminación al momento del manipuleo y el desmenuzado del músculo, originado principalmente por el uso de máquinas no lavadas adecuadamente en cuyos intersticios suelen aún quedar tejidos contaminados. Otra fuente de contaminación son los ambientes, la fuente de agua y el personal que no aplica buenas prácticas de manipuleo.

Los recuentos de aerobios en surimi suelen oscilar entre 10³ y 10⁶ UFC/g, siendo los valores menores característicos de surimi procesado a bordo, lo que indica que los recuentos mayores son debidos más que al cambio de flora a su desarrollo hasta el procesamiento.

Los microorganismos que pueden ser encontrados en surimi provienen tanto de la contaminación adquirida por la materia prima como del crecimiento de dicha flora. Sin embargo es importante mencionar que la mayoría de bacterias encontradas en surimi congelado fueron inactivadas durante el procesamiento, en especial si se aplicó pasteurización por calor al elaborar un producto basado en dicha materia prima intermedia. Los microorganismos encontrados en productos análogos son procedentes de contaminaciones post proceso.

Los productos tradicionales como las salchichas, hamburguesas, empanadas, albóndigas, barras, etc., presentan de acuerdo a su formulación insumos diversos como harina, especerías, agentes gelificantes y otros, e introducen una nueva fuente de microorganismos principalmente del género Bacillus que suelen resistir temperaturas de pasteurización, también debe tomarse atención sobre el recuento de hongos y levaduras. No se conoce si los crioprotectores al ser utilizados en pulpas, ejercen un efecto protector sobre las bacterias, sin embargo se sabe que la sacarosa y el sorbitol permiten mejor el crecimiento microbiano en comparación con pulpa de pescado sin aditivos. Generalmente este tipo de productos es además tratado térmicamente y/o congelado, por lo cual se tomará el criterio respectivo para la ejecución de los análisis microbiológicos.

PRODUCTOS PROCESADOS TÉRMICAMENTE Y ENVASADOS AL VACÍO

La aplicación del tratamiento térmico en alimentos enlatados persigue desde el punto de vista microbiológico dos objetivos principales: destruir los microorganismos existentes en el producto y evitar que ingresen otros desde el exterior, esto último mediante el envase hermético más adecuado a las características del contenido. La eventual existencia de microorganismos viables o sus equivalentes, esporas sobrevivientes y capaces de germinar en células que usualmente elaboran toxinas, representa un grave riesgo al consumidor. La probabilidad de ocurrencia de botulismo es baja, pero el efecto que ocasiona llega a ser mortal.

Las causas de las alteraciones microbiológicas en productos enlatados pueden ser agrupadas según las etapas de procesamiento de la siguiente forma:

a) Contaminación previa al proceso

- La materia prima destinada al procesamiento debe cumplir con las exigencias mínimas de higiene y sanidad, su exposición en condiciones favorables para el desarrollo de una carga microbiana elevada provoca deterioro irreversible, especialmente daños de la calidad.
- El tipo y cantidad de microorganismos que desarrollan en la materia prima varían en función de su ambiente de crecimiento y pueden provenir de un ambiente agrícola, pesquero, materiales fecales de animales y de humanos.
- Los insumos agregados: azúcar, almidón, salsa de tomate, leche en polvo, especias, etc., también constituyen una fuente de contaminación importante.
- La contaminación durante procesamiento, depende además de la eficiencia de higiene, del diseño, materiales de construcción, su operación y disposición de equipos en planta. Estos son aspectos que llegan a determinar la eficiencia en la limpieza y el control sanitario.
- El inadecuado manipuleo y la demora de las operaciones previas al tratamiento térmico son causas de incremento de los recuentos bacterianos iniciales.

b) Esterilización defectuosa

- Debido a procesamiento inadecuado: insuficiente tiempo y/o temperatura de esterilización, crean condiciones adecuadas para la germinación de esporas ó la multiplicación de células viables termorresistentes.

c) Contaminación posterior al proceso

- La falta de hermeticidad del envase es una de las causas más frecuentes del deterioro; puede ocurrir contaminación debido a un cierre incorrecto, golpes, picaduras ó por enfriamiento insuficiente, que facilita sobrepresión interna del envase ocasionando aberturas.
- Es importante la calidad del agua de enfriamiento, una elevada carga microbiana predispone a mayor contaminación del producto

Las bacterias que provocan alteraciones en conservas se clasifican en termófilas y mesófilas, de acuerdo a su temperatura óptima de crecimiento y en aerobias ó anaerobias en función a su capacidad de desarrollar o no en presencia de oxígeno. En alimentos enlatados y esterilizados en forma deficiente las alteraciones son ocasionadas por anaerobios termófilos y mesófilos según sea la intensidad del tratamiento térmico, y la disposición de los envases dentro del autoclave.

Los tratamientos térmicos están definidos para cada tipo de producto, lo cual a su vez se relaciona con la acidez del alimento. Los valores de tratamiento térmico son calculados para destruir esporas del patógeno importante en el centro geométrico de cada envase. Para que el efecto se cumpla debe cumplirse que la distribución del calor sea adecuada, de allí que la disposición y espacio entre envases sea trascendente, de lo contrario pueden existir envases que por su disposición inadecuada dentro de la carga del autoclave no reciban el mismo efecto térmico que las demás. En lo referente a los tipos de deterioro en conservas, se conocen:

- Acidez plana: también referida como "flat sour" (terminología americana), ocasionada por la acción de anaerobios facultativos que elaboran ácido láctico, fórmico, acético, etc., a partir de carbohidratos; sin formación de gas, por lo cual el envase no se hincha.
- Latas hinchadas: presentan formación de gas, principalmente hidrógeno y dióxido de carbono producidos por anaerobios que no utilizan sustratos azufrados y por tanto no ocasionan formación de ácido sulfhídrico. Un ejemplo es Clostridium thermosaccharolytium.
- Contenido ennegrecido: con producción de ácido sulfhídrico que se disuelve en el envase y no provoca hinchamiento, ocasionado por organismos sulfito reductores (Clostridium nigrificans), bacteria que puede utilizar los numerosos aminoácidos azufrados que típicamente conforman las proteínas de pescado y que constituyen nutrientes de alto valor biológico.

- Putrefacción: las bacterias mesófilas anaerobias producen una alteración de tipo putrefactivo. Son sacarolíticas como es el caso de *Clostridium sporogenes* y *Clostridium bifermentans*. Las alteraciones ocasionadas por estas bacterias putrefactivas tienen una producción característica de gases con olor pútrido y que provocan el hinchamiento de la lata.
- La presencia de bacterias aerobias viables es seguro indicador de sellado deficiente o existencia de aberturas y en tal caso podría sospecharse del agua de enfriamiento no tratada. A diferencia de esto, un alimento deteriorado y sin presencia de gérmenes viables confirma el deterioro previo al proceso; dependiendo del tiempo y condiciones de almacenamiento también puede sugerirse la acción de microorganismos que han agotado el sustrato en el almacén.

PRODUCTOS CURADOS

Un factor no de menor relevancia para el deterioro de los alimentos por microorganismos es el contenido de humedad. Ante valores elevados, el riesgo de putrefacción inicial es más rápido haciendo el producto inapropiado para su consumo. Cuando la humedad del producto pesquero es intermedia y le corresponde una actividad de agua (A_w) entre 0.6 a 0.8 el producto soporta bien el crecimiento de bacterias halofílicas y xerofílicas, también el de algunas levaduras y mohos que pueden desarrollarse, principalmente los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* que incluyen algunas especies productoras de toxinas y principalmente de metabolitos que alteran las condiciones de apariencia, color y textura del producto. Algunas técnicas pueden prevenir el crecimiento de estos organismos: la precocción, salado, ahumado, secado y el empleo de sorbatos y propionatos que reducen la probabilidad de elaboración de toxinas bacterianas.

Cuando se trata de referir la calidad microbiológica de los alimentos es muy importante establecer algunos criterios para la interpretación de los resultados de laboratorio. Las referencias de recuento total no deben ser tomadas como absolutas, ya que los recuentos no establecen ninguna diferencia entre organismos patógenos o no patógenos; del mismo modo el número de coliformes, agrupa bacterias que no son patógenas; inclusive la temperatura de cultivo de *E. coli* suele no ser la adecuada para el crecimiento de *E. coli* O157:H7 y otras cepas enterohemorrágicas de enorme gravedad en enfermedades transmitidas por alimentos.

La adición de sal en un producto cárnico ocasiona un desbalance electrolítico tisular osmótico con una disminución del agua disponible para el deterioro o lo que suele llamarse un descenso en la Actividad del Agua (A_w), de allí su acción inhibitoria sobre los microorganismos. Las bacterias no halotolerantes son en su mayoría organismos putrefactivos y de importancia higiénico-sanitaria, a excepción de halófilos como el *Vibrio parahaemolyticus* que sí presenta riesgo de intoxicación alimentaria, de modo que la tecnología de curado inhibe el ataque microbiano y reduce pérdidas de calidad y valor comercial.

El desarrollo o multiplicación de microorganismos conjuntamente con la elaboración de toxinas se presenta con mayor énfasis si la humedad del producto es adecuada. Este factor condiciona no sólo la recuperación de las bacterias sobrevivientes que fueron estresadas por la acción del salado sino también de aquellas que gracias a ambientes adecuados pueden contaminar y multiplicarse en el producto. Los agentes causantes de deterioro son los roedores, aves, insectos y otros externos que adicionan factores para la transmisión de enfermedades.

ACTIVIDAD DEL AGUA (AW) Y SAL COMO FACTORES DE INHIBICION

Uno de los factores que influye en el desarrollo bacteriano es el llamado valor A_w (actividad de agua), agua disponible para propiciar deterioro. La adición de sal, debido a los mecanismos de ósmosis que provoca, reduce su cantidad dificultando las condiciones de subsistencia bacteriana. Existe también la influencia del medio externo, la humedad ambiental que es absorbida por el producto; en el caso de ambientes secos el proceso es inverso, el producto perderá su propia humedad derivando en este caso en pérdida de características sensoriales.

Valor de Aw	Tiempo de Latencia (horas)	Tiempo generacional (horas)
0.9989	1.3	0.34
0.9750	3.5	0.49
0.9650	1.2	0.83
0.9500	53	2.4
0.9450	234	11
0.9450	+1	+1

+1 = No hubo crecimiento después de 430 horas

Cuadro 1. Influencia del Valor Aw en el medio para crecimiento de Enterobacter aerogenes

El requerimiento de agua de las bacterias es alto; las levaduras, hongos y otros organismos halotolerantes y halófilos muestran menor necesidad. En el Cuadro 1 puede observarse el efecto de la actividad de agua en la multiplicación de una bacteria: Enterobacter aerogenes. El efecto de inhibición de la sal no excluye factores como temperatura, pH y sustancias conservantes; generalmente las bacterias halorresistentes son sensibles a medios ácidos.

MICROORGANISMOS RESPONSABLES DE ALTERACIONES :

Bacterias: Existen tres grupos de bacterias respecto a su tolerancia a la sal; las no resistentes, entre las que se tienen a los géneros Pseudomonas, Achromobacter, Flavobacterium, etc.; las resistentes a la sal como son el género Micrococcus, Staphylococcus aureus, C botulinum (se inhibe con 10 a 12% de sal) y los grupos eminentemente halófilos, que requieren por lo menos 12% de sal en el medio, como el género Halobacterium. También se han presentado casos de putrefacción por anaerobios. La mayoría de los organismos de importancia higiénico-sanitaria no resisten concentraciones elevadas de sal.

Las especies que atacan el pescado curado pertenecen a los géneros Halobacterium y Halococcus, que producen manchas de color rosado en el producto debido a su acción proteolítica que reblandece y llega a romper los tejidos causando olores y sabores desagradables. Estos organismos sin embargo, son aerobios y no resisten temperaturas menores de 10°C, lo cual permite aplicar ventajosamente tecnologías de preservación del producto (vacío, refrigeración, etc.). Los organismos en mención pueden estar presentes en la sal común.

Los grupos Lactobacteriaceae pueden crecer en la superficie de productos ahumados y cocidos, provocando tonalidades verdosas debido al peróxido de hidrógeno que producen. En el pescado ahumado en caliente (82.2°C) se destruyen los microorganismos más comunes durante el proceso pero se ha reportado casos de supervivencia de Micrococcus. Durante el ahumado en frío, el crecimiento microbiano es poco probable bastante bajo debido a la acción de inhibición de las sustancias químicas presentes en el humo. Existe sin embargo, un riesgo que debe tomarse en cuenta cuando se habla del uso de materia prima, de calidad bacteriológica, y es la producción de toxinas. Aún cuando no sobrevivan los microorganismos de los cuales proceden, tienen una inhibición lenta y constituyen un serio peligro para la salud; así se tiene el caso del Clostridium botulinum que además forma esporas y el Staphylococcus aureus. También es importante mencionar la intoxicación ocasionada por Vibrio parahaemolyticus; numerosos reportes lo confirman como causante del 60% de los casos de intoxicación por alimentos en el Japón.

Hongos: Son los más resistentes pues sobreviven en Aw alrededor de 0.6. Sus esporas, que pueden existir libremente en el aire y suelos contaminan fácilmente durante el procesamiento; más aún si existen otros agentes de transporte que viabilicen su ingreso. El tipo de alteración más común en este tipo de productos es el oscurecimiento por hongos, cuyo crecimiento es óptimo a niveles de Aw de 0.75 y 10 a 15% de sal.

Los géneros causantes de las alteraciones de color son los hongos halófilos y halotolerantes Wallemia spp. y Oospora spp. (Geotrichum); Wallemia sebi son causantes de manchas marrones. El género Aspergillus, especialmente Aspergillus glaucus, A. amstelodami, A. chevaliei y A. ryber han sido observados en productos curados, la alteración que provocan no ocasiona cambios notables de sabor u olor en el producto, a diferencia de las rodobacterias

El metabolismo de hongos produce humedad que reblandece los tejidos y favorece el crecimiento bacteriano. El inicio del crecimiento de hongos suele ser tomado como el límite entre productos de buena y mala calidad, reduciendo el valor comercial del producto. Tanto a temperaturas de

refrigeración como a temperaturas mayores de 40°C puede inhibirse el crecimiento de hongos. El criterio de temperatura óptima es el correspondiente a una temperatura que permite el desarrollo adecuado del organismo y las condiciones para la elaboración de metabolitos que pueden afectar la calidad estética o higiénica sanitaria del producto.

Algunos hongos son productores de toxinas (micotoxinas); el *A. ochraceus* cuyo valor de A_w es 0.76, llega a producir toxinas (ácido penicílico y ocratoxina A) en productos secos aún en A_w de 0.8 y 0.85. La aflatoxina elaborada por *A. flavus* y *A. parasiticus* es de alta peligrosidad a la salud en los niveles de 600 a 700 ppm encontrados en pescado curado en Vietnam. Wu y Salunkhe (1978) aislaron 114 hongos en camarones secos, de los cuales 27 eran *Aspergillus* spp y grandes productores de micotoxinas; dos de tres *A. flavus* aislados produjeron aflatoxinas B1.

Levaduras: Las levaduras halófilas encuentran condiciones favorables para su crecimiento en sustratos con 10 a 20% de sal y valor de A_w de alrededor de 0.85. Organismos representativos son: *Debaryomyces hansenii*, *Saccharomyces rouxii*, *Pichia ohmeria* y *Hansenula anomala*, el último es común en el agua de mar y sobrevive en la sal solar, resiste concentraciones de hasta 24% de sal; sin embargo no existen reportes sobre su crecimiento y daños en el producto.

*Bibliografía: Consultar con autores