

Curso

Microbiología de los alimentos:



**Un enfoque
práctico para la
inocuidad
alimentaria**



Facilitadoras
M.Sc. Flavia Andino Rugama
Ing. Yorling Castillo

Estelí, Febrero 2010

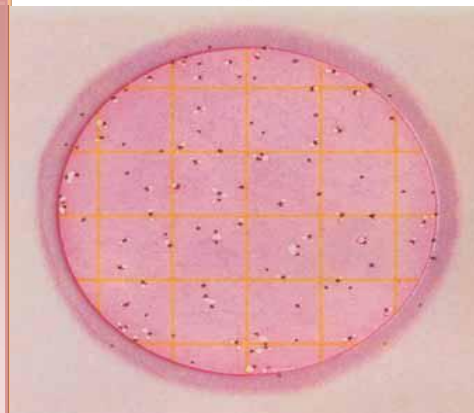


TABLA DE CONTENIDO

I. Introducción.....
II. Objetivos del curso.....
III. Contenidos del curso.....
1. Principios fundamentales de Microbiología
1.1 Aspectos generales de la microbiología.....
1.2 Importancia de la microbiología para el aseguramiento de la inocuidad de los alimentos.....
2. Aspectos generales de los microorganismos: Bacterias, hongos, virus
2.1 Características
2.2 Clasificación
2.3 Reproducción
2.4 Parámetros intrínsecos y extrínsecos relacionados con el desarrollo microbiano
3. Enfermedades transmitidas por alimentos
3.1 Enfermedades transmitidas por bacterias.....
3.2 Enfermedades transmitidas por virus.....
3.3 Enfermedades transmitidas por hongos.....
4. Métodos de detección de contaminación microbiana.....
4.1 Método de detección de mesófilos aerobios
4.2 Método de detección de coliformes fecales
4.3 Método de detección de <i>Escherichia coli</i>
IV. Actividades de aprendizaje
V. Bibliografía.....

MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS: UN ENFOQUE PRÁCTICO PARA LA INOCUIDAD ALIMENTARIA

I. INTRODUCCIÓN

Este curso está dirigido a estudiantes de Ingeniería Agroindustrial e Industrial y abordaremos aspectos relevantes sobre la Microbiología de los alimentos en un período de 20 horas. Para esto primeramente destacaremos que la microbiología es el estudio de los organismos microscópicos y de sus actividades. Su estudio es de relevancia en el sector agroindustrial, por las aplicaciones que tienen dentro de la transformación de los alimentos y por las alteraciones que causan, cuando desembocan en enfermedades, que luego se convierten en pandemias.

Ya en los primeros años de formación profesional, los futuros ingenieros agroindustriales, conocen la relevancia que tienen los microorganismos en el sector para la obtención de un producto, pero se hace necesario profundizar un poco más en un aspecto de vital importancia en el sector alimenticio, en lo que concierne a las amenazas hacia la salud del consumidor, por lo que en este curso se proporcionará información sobre los grupos de microorganismos que causan perjuicios y transforman los alimentos.

La razón principal por la que es importante determinar los efectos en los alimentos de la acción de estos microorganismos es por su afectación a la salud, siendo causante principal de muchas enfermedades.

En este aspecto también se debe considerar los principales procedimientos y técnicas que se emplean para determinar la incidencia de estos microorganismos, por lo que el conocimiento y la aplicación práctica de métodos para la detección rápida de microorganismos tendrán un espacio en este curso, ya que hoy en día, es la forma más rápida de obtener información que permitan la toma de decisiones. Estos métodos son empleados por la mayoría de las industrias alimentarias y sirven para descartar o cuarentenar aquellos lotes sospechosos, con el respaldo de un análisis confiable.

Para desarrollar estos aspectos, el curso se ha organizado en cuatro temas, iniciando por uno general, luego se abordarán aspectos relacionados con los grupos de microorganismos, seguidamente se estudiarán algunas de las enfermedades ocasionadas por estos grupos de microorganismos. Finalmente, se abordarán algunos de los métodos para la detección rápida de los microorganismos.

II. OBJETIVOS

Al finalizar el curso, el alumno será capaz de:

- Analizar el papel y significado de los microorganismos en la naturaleza y en los alimentos.
- Determinar mediante métodos rápidos la presencia de mesófilos aerobios, coliformes fecales y *Escherichia coli* en una muestra de un alimento.
- Evaluar los riesgos de la contaminación microbiológica en un alimento.

III. DESARROLLO DEL CONTENIDO

1. PRINCIPIOS FUNDAMENTALES DE MICROBIOLOGÍA

En este tema se abordarán dos contenidos, uno de ellos relacionados con los aspectos generales de la microbiología y el segundo que abordará aspectos relacionados con la importancia de la microbiología en la industria alimenticia, especialmente con lo relacionado a la inocuidad de los alimentos.

1.1 Aspectos generales de la microbiología

Se sabe que los microorganismos se originaron hace aproximadamente 4000 millones de años, más sin embargo, la microbiología es relativamente una ciencia joven, lo que está relacionado con el hecho de que se dedica al estudio de seres no vistos a simple vista, así tenemos que los primeros microorganismos se observaron hace 300 años y sin embargo pasaron unos 200 años hasta que se reconoció su importancia.

La existencia de los microorganismos no se conoció hasta la invención del microscopio, siendo el holandés Antony van Leeuwenhoek quien realizó las primeras observaciones de los microorganismos y los describió en detalle en 1684, a los cuales denominó animáculos. Sin embargo, estas observaciones no condujeron a ninguna investigación acerca de las posibles actividades de los microorganismos, ni como agentes de fermentaciones ni de enfermedades infecciosas ya que el desarrollo de la química y de la medicina era demasiado primitivo.

Es de tener en cuenta que desde la Prehistoria los hombres utilizan con provecho las fermentaciones. El pan fermentado se conoce desde hace varios miles de años. Desde la antigüedad, el hombre recurría a la fermentación para fabricar

bebidas alcohólicas. Al preparar el pan, vino, cerveza o sake, los egipcios, sumerios y todas las personas hasta mediados del Siglo XIX, empleaban sin saberlo, y de una manera empírica, una familia de agentes biológicos muy originales: las levaduras, quienes realizan la fermentación alcohólica, cuyo papel como agentes fermentadores no fue reconocido hasta 1856 por Luis Pasteur, quien demostró que las células viables de levaduras causan fermentación en condiciones anaeróbicas; durante dicha fermentación el azúcar presente en el mosto es convertido principalmente en etanol y CO₂. Sus ilustraciones claramente muestran auténticas levaduras vínicas y en sus escritos él las diferenciaba claramente de otros componentes.

A Pasteur también se le reconoce el haber resuelto el problema de los fracasos con las fermentaciones de alcohol, definiendo nuevos procedimientos para la conservación y envejecimiento y un método para aumentar la calidad de la conservación de los vinos consistente en calentarlos a una temperatura de 68° C durante 10 minutos y después enfriarlos rápidamente. Esta técnica ha venido a ser conocida como pasteurización y es ahora ampliamente utilizada en el tratamiento de la leche.

Otro aspecto histórico importante fue el realizado por Mechnikov (1888 - 1916) quien estudió los mecanismos de las enfermedades infecciosas, haciendo valiosos aportes al desarrollo de la Microbiología.

Un acontecimiento relevante en el desarrollo histórico de la Microbiología es el descubrimiento de la función de los microorganismos como causantes de enfermedades. Ya en 1546 Girolano Fracastoro había sugerido que las enfermedades podían deberse a organismos tan pequeños que no podían verse y que eran transmitidos de una persona a otra, lo que no estuvo descubierto hasta que a través del estudio del carbunco, infección grave de los animales domésticos que es transmisible al hombre, se llegó a la demostración concluyente de la causa bacteriana o etiología del carbunco por Robert Koch en 1876, un médico rural alemán. Koch empezó a estudiar el mundo microbiano cuando recibió como obsequio un microscopio y fue el que anunció haber encontrado la bacteria del carbunco (*Bacillus anthracis*). Posteriormente él y sus colaboradores descubrieron las bacterias que causan la tuberculosis y el cólera.

Esta serie de experimentos se ajustaban a los criterios necesarios para poder establecer la relación causal entre un organismo específico y una enfermedad específica, criterios que se conocen como los postulados de Koch, de los cuales se hablará posteriormente. Este trabajo sobre el carbunco condujo rápidamente a la edad de oro de la bacteriología. En 25 años la mayoría de los agentes bacterianos de las principales enfermedades humanas habían sido descubiertos y descritos.

Posteriormente, el descubrimiento posterior de los virus (Dimitri Ivanovski en 1892; el virus del mosaico del tabaco pasaba los filtros que retenían a las bacterias), agentes que no crecen en medios artificiales en el laboratorio como lo hacen las

bacterias, han permitido realizar algunas modificaciones en los postulados de Koch.

Durante todo el siglo XIX se descubrieron y estudiaron los agentes causantes de enfermedades en el hombre y los animales. A finales del siglo XIX surge la Microbiología agrícola. Se descubren las bacterias nitrificantes y el rol de éstos en la circulación del nitrógeno en la naturaleza.

✚ Concepto y alcance de la microbiología

La Microbiología es la ciencia que se encarga del estudio de los organismos más pequeños, minúsculos, invisibles a simple vista, llamados microorganismos o microbios y procede del vocablo griego:

Micro	=	Pequeño
Bios	=	Vida
Logos	=	Estudio, tratado

La microbiología es el estudio de los microorganismos, de su biología, su ecología y, en nuestro caso su utilización en la producción de bienes agrícolas o industriales y su actividad en la alteración y deterioro de dichos bienes. Esta definición hace necesaria la de tres conceptos que se incluyen en ella: microorganismo, biología y ecología. El conocimiento de la biología y la ecología microbiana son imprescindibles para poder comprender de qué forma los microorganismos interactúan con los seres humanos y qué tipos de relaciones establecen con ellos.

Por tanto, la Microbiología estudia la morfología (estructura interna y externa, sus formaciones especiales), citología (estudio de las características de las células), fisiología (formas de desarrollo y los procesos vitales de los microorganismos), ecología (relaciones que mantienen los microorganismos con el medio ambiente y los demás seres); genética y bioquímica de los microorganismos; así como su papel e importancia para la vida animal y vegetal.

Dentro de la biología de los microorganismos se estudia su estructura, metabolismo y genética. La **estructura** de los microorganismos condiciona de forma muy importante su metabolismo. El **metabolismo** es el conjunto de reacciones de utilización de los mismos y de producción de energía (catabolismo) que permiten a los microorganismos crecer y multiplicarse (anabolismo) y, como consecuencia, alterar el ambiente en el que se encuentran. La **genética** garantiza conocer el proceso de transmisión de la información que permite el desarrollo de un microorganismo con una morfología y un metabolismo determinado; esta transmisión de información puede ocurrir entre unas células y sus descendientes (transmisión vertical) o entre células que conviven en un mismo ambiente y que pueden no estar relacionadas genealógicamente (transformación, conjugación y transducción).

La **ecología microbiana** estudia cómo se relaciona un microorganismo con el ambiente que lo rodea, utilizando los nutrientes que encuentra y produciendo desechos que lo alteran de forma substancial. Esta alteración del ambiente puede tener valoraciones diferentes desde el punto de vista humano: por un lado, la alteración producida por ciertos grupos bacterianos o fúngicos son de interés en la producción de alimentos; mientras que las producidas por otros grupos dan lugar a procesos patológicos. Ambos tipos de alteraciones, en cualquier caso, sólo tienen una valoración desde el punto de vista humano sin que se diferencien desde el punto de vista ecológico.

Interacciones entre microorganismos

Un aspecto adicional a considerar en la ecología microbiana es el referente a los tipos de interacción que pueden establecer los microorganismos entre sí y con los seres humanos.

Los microorganismos están presentes en todas las superficies exteriores de los utensilios, en el aire, en el agua, en los alimentos y en las cavidades internas del cuerpo que tienen conexión con el exterior (tracto respiratorio y tracto digestivo). En condiciones normales, los órganos y cavidades internas carecen de microorganismos, son estériles (estéril significa libre de microorganismos). De la misma manera, el interior de los músculos o de cualquier tejido sólido está estéril.

Los microorganismos no se encuentran aislados, sino que su número suele ser muy elevado por unidad de volumen o por unidad de superficie. Por consiguiente, allí donde se encuentran son muy abundantes. Además suelen formar agrupaciones de varios microorganismos que interactúan entre sí: unos pueden usar como alimento los productos residuales de otros, o pueden ser atacados por los vecinos que compiten por el mismo alimento. Estas interacciones dan lugar a sucesiones de microorganismos: la microflora de una superficie, de un alimento o del interior de una cavidad abierta del cuerpo puede variar con el tiempo.

Conceptos básicos

Microorganismo o microbio. Son organismos muy pequeños, no visibles a simple vista, de tamaño microscópico, dotados de individualidad, con una organización biológica elemental. Esta definición operativa no incluye los hongos, tanto inferiores como superiores, ni las algas aunque ambos grupos son considerados microorganismos porque su organización es esencialmente unicelular (las células que los constituyen mantienen un alto grado de autonomía entre sí).

Pueden ser unicelulares multicelulares (los conformados por células indiferenciadas, que al asociarse no forman tejido. Por otra parte, organismos pluricelulares pueden ser de tamaño tan pequeño que entran dentro de la definición anterior sin dejar por ello de ser estructuralmente tan complejos como cualquier animal superior.

Los microbios corresponden a organismos tales como bacterias, hongos y levaduras, es decir procariotes y eucariontes que midan menos de una décima de milímetro. Mención aparte merecen los virus, partículas inanimadas de material genético protegido por capas más o menos complejas de proteínas y lípidos. Carecen de actividad metabólica cuando se encuentran libres.

Células procariotas. Células que no están divididas en compartimientos ni poseen núcleo verdadero.

Células eucariotas. Este tipo de célula está dividida en compartimientos limitados por membranas internas.

Bacterias. Son microorganismos procariotas, unicelulares, de tamaño microscópico (del orden de los micrones).

Hongos. Son microorganismos de estructura celular eucariota (pudiendo ser unicelulares o pluricelulares).

Virus. Son microorganismos subcelulares, que se comportan como parásitos intracelulares estrictos.

Agentes microbianos. Son los microorganismos de vida útil, indicadores y patógenos.

Contaminación. La introducción o presencia de un contaminante en los alimentos o en el medio ambiente alimentario.

Calidad sanitaria. Es el conjunto de requisitos microbiológicos, físico-químicos y organolépticos que debe reunir un alimento para ser considerado inocuo para el consumo humano.

Inocuidad. La garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y consuman de acuerdo con el uso a que se destinan.

Enfermedad infecciosa. Son aquellas enfermedades causadas por múltiples agentes patógenos (bacterias, virus, hongos y parásitos). Dichos agentes interactúan con el organismo humano de diferentes maneras,

Acción tóxica. Determinada por la producción de Exotoxinas y/o Endotoxinas producidas por un agente microbiano.

Exotoxinas = Son sustancias de naturaleza proteica que se liberan de forma directa o a través de vesículas, sin que se produzca lisis bacteriana. Tienen una acción específica y se pueden clasificar en neurotoxinas (toxina: diftérica, tetánica, botulínica, etc) y enterotoxinas (toxina de *Bordetella pertusis*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium difficile*, *Shigella dysenteriae*, etc.).

Algunas toxinas al ser inactivadas (con formaldehído) no alteran su antigenicidad, y los toxoides resultantes proporcionan algunas de las vacunas más eficaces (Ej. toxoide tetánico y toxoide diftérico).

Endotoxinas. Son sustancia de naturaleza lipopolisacárida, localizadas en la superficie celular del microorganismo y que son liberadas por lisis bacteriana. Son producidas principalmente por las bacterias Gram – de los géneros *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* y *Klebsiella*. El shock por endotoxinas (shock séptico) se suele asociar con la diseminación sistémica del microorganismo y, el ejemplo más común es la septicemia por bacterias Gram - como *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*, etc.

Alimentos prebióticos y probióticos. Los probióticos son alimentos que contienen bacterias cuya presencia en el intestino es beneficiosa porque favorecen la digestión de alimentos y eliminan competidores. La ingesta de ciertas bacterias como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* tiene efectos particularmente favorables para la salud. En cambio, los prebióticos son aquellos que estimulan el desarrollo de las poblaciones bacterianas intestinales beneficiosas. Normalmente estos alimentos contienen azúcares complejos que no son digeridos en la parte superior del intestino y llegan a la región del colon donde alimentan estos tipos de bacterias.

Cultivos. Son ambientes artificiales que contienen los elementos nutritivos y las condiciones físico- químicas que permiten el desarrollo, crecimiento, conservación y estudio de los microorganismos.

Con el desarrollo de la Genética y la Selección de los microorganismos en la Microbiología se introdujo el concepto de población, que es la unidad elemental que representa al conjunto de individuos de cada especie.

La clon (clon) representa al conjunto de individuos que se derivan de una misma célula.

Bajo el término de cepa se entiende el cultivo microbiano aislado del organismo.

1.2 Importancia de la microbiología para el aseguramiento de la inocuidad de los alimentos

La tarea más importante de la Microbiología es explicar la importancia para el hombre, los animales y las plantas de diferentes procesos que tienen lugar en los microorganismos.

Microorganismos como agentes geoquímicas

Desde la época de los estudios de Winogradsky se sabe que los microorganismos realizan unas funciones geoquímicas de gran importancia. Citaremos únicamente

dos ejemplos: el nitrógeno disponible para la formación de materia orgánica lo es porque microorganismos de género *Rhizobium* son capaces de producirlo en su forma biológicamente utilizable a partir del nitrógeno atmosférico inutilizable por plantas o animales.

El segundo ejemplo se remonta a eras geológicas anteriores en las que la atmósfera del planeta era fuertemente reductora; la acción de bacterias fotosintéticas generó niveles de oxígeno suficientes para que la atmósfera pasara a ser oxidante y permitiera el desarrollo de los organismos aeróbicos que conocemos.

Los microorganismos en biotecnología

En los últimos años se ha incrementado la utilización de microorganismos en aplicaciones biotecnológicas; esto es, en la utilización de los conocimientos sobre la biología molecular y la genética de los microorganismos para poder dirigir en ellos la producción de compuestos de interés (fármacos, anticuerpos) y para el desarrollo de técnicas bioquímicas de diagnóstico molecular.

Microorganismos en los alimentos

La importancia de los microorganismos en los alimentos es más evidente. La producción de alimentos por técnicas microbiológicas es una actividad de larga historia: los microorganismos alteran los constituyentes de los alimentos de forma que los estabilizan permitiendo su mayor duración y, además, proporcionan compuestos que confieren sabores característicos a los alimentos por ellos producidos. Esta faceta se complementa con la acción de microorganismos alterantes de los alimentos y responsables de su deterioro de forma que se hagan inaceptables por los consumidores.

Desde el punto de vista sanitario, los alimentos pueden ser vehículos de infecciones (ingestión de microorganismos patógenos) o de intoxicaciones (ingestión de toxinas producidas por microorganismos) graves. En este sentido se han desarrollado las técnicas de control microbiológico de alimentos.

Muchas veces la causa de la contaminación del alimento se debe a medidas higiénicas inadecuadas en la producción, preparación y conservación; lo que facilita la presencia y el desarrollo de microorganismos que producto de su actividad y haciendo uso de las sustancias nutritivas presentes en éste, lo transforman volviéndolo inaceptable para la salud humana.

Por esta razón, es que una de las principales actividades en la conservación y elaboración de alimentos a partir de productos vegetales y animales es la reducción de la contaminación de los mismos, sea biótica o abiótica. Para poder llevar a cabo esta actividad es necesario lo siguiente:

- Identificar los agentes contaminantes y las fuentes de contaminación.

- Caracterizar el potencial tóxico de los agentes y de las sustancias contaminantes individualmente.
- Valorar en términos reales el impacto sobre la salud del consumidor.
- Controlar los niveles de los contaminantes en los alimentos.
- Establecer programas prácticos para las personas involucradas en todos los sectores de la cadena alimentaria (productores primarios y secundarios, transportistas, distribuidores, organismos de control y consumidores).

Para el aseguramiento higiénico sanitario de los alimentos no sólo debe de tomarse en cuenta el producir alimentos sanos, organolépticamente aceptables, nutricionalmente adecuados, sino el garantizar que dichos productos no se contaminen a causa de agentes biológicos, químicos y físicos durante la producción, transporte, almacenamiento y distribución, así como durante las fases de su elaboración industrial, manipulación e inmediata preparación para su consumo.

Los alimentos sean de origen animal o vegetal pueden fácilmente presentar contaminación por microorganismos. Esta contaminación es una de las más estudiadas y puede presentar un riesgo para la salud. Tenemos ejemplos de epidemias cuyas fuentes de contaminación han sido alimentos con altos índices de microorganismos y la actividad de ellos, que incluye entre otras cosas la producción de toxinas que afectan la calidad del alimento.

2. ASPECTOS GENERALES DE LOS MICROORGANISMOS: BACTERIAS, HONGOS, VIRUS

2.1 Características

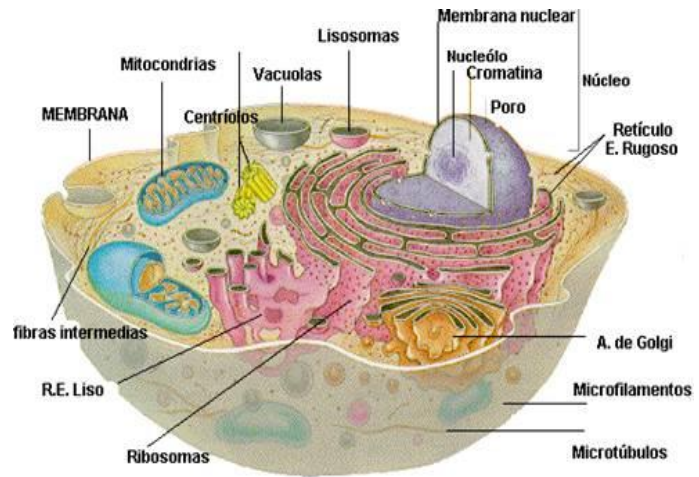
✚ Células procariotas

En general, las células procarióticas son más simples que las eucarióticas ya que contienen membranas internas que diferencian órganos celulares (aparato de Golgi, retículo endoplásmico, vacuolas, etc.) no presentes en las células procariotas. En éstas el citoplasma es continuo y en él se encuentra los encargados de la traducción del mensaje genético en proteínas.

Las células procariotas son pequeñas y muy poco puede aprenderse de su estructura sin el empleo del microscopio electrónico. Estas células procarióticas tienen una estructura simple, carecen de complejos organelos internos que se encuentran en las eucariotas y su material genético no está presente en un núcleo reducido por una membrana.

✚ Células eucariotas

Las células eucarióticas son el resultado de una simbiosis establecida hace muchos millones de años entre células procarióticas (que han dado lugar a las mitocondrias y a los cloroplastos) y un núcleo eucariótico (el núcleo de nuestras células). A causa de esta simbiosis, ciertos agentes quimioterápicos que son activos frente a procariontes pueden resultar tóxicos para eucariotas al interactuar con sus mitocondrias.



Las células eucarióticas (las que tienen un núcleo verdadero), presentan estructuras intracelulares bien definidas rodeadas por una membrana y denominadas organelos celulares, un ejemplo de estos organelos son el núcleo, mitocondria, cloroplastos.

Las células de los organismos superiores tanto los vegetales como los animales son eucariotas. En general el tamaño de la célula eucariota es mucho mayor que el de las células procariotas.

La división celular y la reproducción sexual son también más complejas en las eucariotas que en las procariotas.

✚ Las bacterias

Entre las características principales de las bacterias están:

- Están contenidas en una Pared Celular
- Poseen ambos tipos de ácidos nucleicos (ADN y ARN)
- El tamaño de las bacterias varía mucho según la especie; algunas bacterias son muy diminutas, en cambio otras son tan grandes que casi se perciben a simple vista. Sin embargo, las dimensiones de la mayoría de ellas son intermedias entre estos dos extremos. La unidad de medida para las bacterias es la micra que equivale a 0,001 mm, es decir, la milésima parte de un milímetro y se representa por Ji.

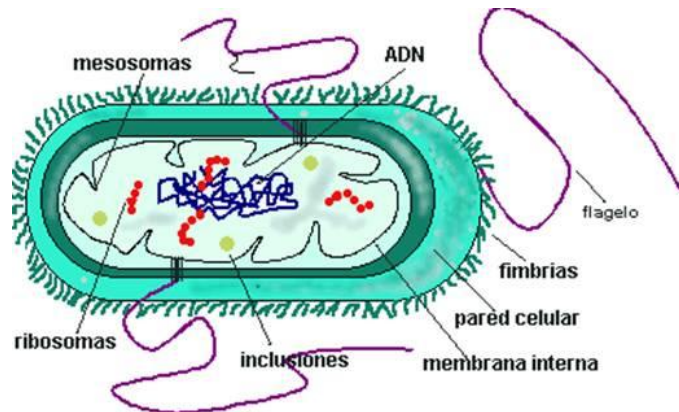
Las bacterias pueden ser:

- aerobias o anaerobias
- móviles o inmóviles
- patógenas (causan enfermedades en el organismo al que invaden) o Saprofitas (es decir, viven libres en la naturaleza, se nutren de materia

inorgánica u orgánica, siendo responsables de la transformación de la materia orgánica en mineral y de los ciclos del N y del C en la naturaleza).

En la estructura bacteriana se distinguen los siguientes componentes

1. pared celular
2. membrana citoplasmática
1. citoplasma
2. ribosomas
3. nucleoide
- A. flagelo
4. fimbrias
5. capsula (en facultativas)
6. esporas (inconstante)
7. plasmidos

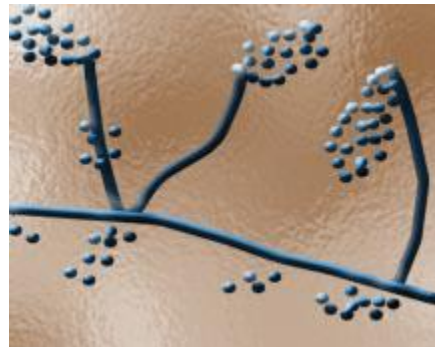


Los hongos

Los hongos o mohos son talofitas, sin diferenciación estructural en raíces, tallos y hojas. Están desprovistos de clorofila, por lo que son heterótrofos, que obtienen su alimento de las materias muertas, como saprofitos, o se nutren como parásitos sobre huéspedes vivos.

Entre sus características más importantes están:

- Poseen una pared celular rígida que contiene quitina, glucano, manano y otros polisacáridos.
- La membrana plasmática es rica en esteroides
- Su citoplasma presenta organelos (mitocondrias, retículo endoplasmático, etc) y además existe flujo citoplasmático.
- Poseen núcleo verdadero (núcleo rodeado de membrana nuclear) y contiene varios pares de cromosomas (los filamentos de ADN están unidos por puentes histonas y proteínas).
- Se cultivan sólo en medios ácidos, donde se desarrollan lentamente ya sea en forma de Levaduras o de filamentos (Hifas y/o Micelios).



Aunque el término moho no está definido con precisión, la mayoría de los biólogos consideran como mohos los hongos pequeños, filamentosos, multinucleados y, en ciertos casos, pluricelulares. Muchos de ellos se reconocen en la apariencia algodonosa del micelio vegetativo. El organismo de los mohos está constituido por el micelio que es un agregado de filamentos filiformes o hifas. Estas hifas son de dos tipos funcionales:

1. Hifas vegetativas que penetran en el sustrato para absorber las sustancias nutritivas, e
2. Hifas fértiles (aéreas), que producen las células reproductoras.

Las hifas son túbulos cilíndricos ramificados, de diámetro variable, tabicados o no, constituidos por una pared celular rígida, delgada y transparente que contiene una masa citoplasmática multinucleada y móvil. Pueden tener una serie de elementos que cumplen diferentes funciones, como los rizoides que penetran en el sustrato primitivo en busca de alimentos

Los micelios es un conjunto de hifas ramificadas, entrelazadas y de disposición variable. Los micelios pueden ser:

- Micelio aéreo o reproductor. Es la parte del micelio que se proyecta por encima del sustrato y que se encarga de la función reproductora y de dispersión de la especie mediante esporas.
- Micelio vegetativo. Es la parte del micelio que penetra en el sustrato (superficie del suelo, plantas, alimento, etc.) para absorber sustancias nutricionales.
- Pseudomicelio. Es una estructura de transición entre la colonia (talo) unicelular o pluricelular que presentan algunos hongos unicelulares como *Candida*.
- Dimórfica. Son hongos que pueden existir tanto en forma de levadura o filamentosa, según el medio en el que se encuentren. Ej. *Histoplasma Capsulatum*, *Coccidioides*, *Paracoccidioides*, *Blastomyces*, *Sporothrix*, etc.

La identificación de los hongos depende en gran medida de caracteres morfológicos tales como el tipo y disposición de las esporas. Fisiológicamente, los mohos se adaptan a condiciones más severas que los otros microorganismos. Por ejemplo los mohos se desarrollan en sustratos con concentraciones de azúcares que las bacterias no pueden tolerar, ya que los mohos no son tan sensibles a la presión osmótica elevada. Los mohos toleran y se desarrollan en concentraciones de acidez relativamente elevadas. Soportan escalas de pH entre 2 a 9.0, pero el pH óptimo para casi todas las especies es de 5 - 6.

Requerimientos fisiológicos y nutricionales de mohos y bacterias comparados.

Parámetro	Mohos	Bacterias
pH Optimo	5.6	6.5- 7.5
Temperatura optima	22 – 30° C	20-30°
Gases	Aerobios estrictos	Anaerobias o aerobias
Luz	Ninguna	Algunas gr. fotosintéticas
Concentración de azúcares en el medio	4%	0.5 -1%

Casi todos los mohos son estrictamente aerobios, su crecimiento lo incrementa la presencia de abundante O^2 , se desarrollan en condiciones de temperaturas muy variadas, pero entre 22 a 30° C es la óptima para la mayor parte de las especies. Algunos hongos pueden crecer a 0°C y por lo mismo, dañar la carne y los vegetales en refrigeración.

Algunos mohos termófilos se desarrollan a 62° C. La glucosa es una fuente de carbono muy aprovechada por muchos mohos, otros azúcares como la sacarosa y la maltosa, así como muchos compuestos de carbono orgánico más complejos como el almidón y la celulosa son utilizados por muchas especies. También necesitan para su desarrollo pequeñas cantidades de hierro, fósforo, potasio, zinc, cobre, manganeso y molibdeno. Algunas especies necesitan vitaminas.

Virus

El grupo de los virus es el de organismos más pequeños y se caracteriza por:

- Poseen tamaño ultramicroscópico (invisibles al microscopio salvo el Poxvirus).
- Su estructura elemental está formada por un sólo tipo de ácido nucleico (ARN o ADN), contenido en la capsida, la que a su vez puede o no estar rodeada por una envoltura lipoprotéica o peplos.
- Carecen de organelos y no poseen ribosomas (sólo algunos virus mayores contienen algunos fermentos).
- En medios inanimados se comportan como partículas inertes ya que en ellos son incapaces de crecer y multiplicarse.
- En el medio intracelular el ácido nucleico viral utiliza los mecanismos de biosíntesis de la célula huésped para replicarse e inducir la síntesis específica de sus proteínas que al integrarse al genoma replicado originarán nuevos viriones.

En cuanto a la estructura, se observa lo siguiente:

- ácido nucleico: que puede encontrarse en forma monocatenaria, bicatenaria, lineal o circular. la función del ácido nucleico es suministrar la información para programar, en la célula huésped, la síntesis de sus propios componentes.
- capsida: es una cubierta proteica que rodea al ácido nucleico viral, protegiéndolo y facilitándole la penetración en la célula susceptible.
- está compuesta por subunidades proteicas, llamadas capsómeros, los cuales se acoplan siguiendo un orden simétrico que le confiere al virus su morfología particular :
- envoltura o peplos: se trata de una membrana lipoprotéica que envuelve la nucleocapsida viral (ácido nucleico + capsida) protegiéndola. en algunos virus, de la envoltura parten proyecciones o espículas de naturaleza glucoprotéica. Según la presencia o no de envoltura, los virus pueden dividirse en :

- virus desnudos = su nucleocapside no se encuentra rodeada de peplos; son resistentes a las condiciones del medio ambiente, a la bilis y esto se debe a la estructura proteica de la capsida.
- virus envueltos = su nucleocapside está rodeada por peplos; estos virus son sensibles a factores ambientales tales como: sequedad, al pH gástrico a la bilis, etc. debido a que el peplos por su estructura lipídica torna más vulnerable al virus.
- Concepto de virion: se denomina así a la partícula viral completa posea o no envoltura.
- Concepto de viroide : partícula de ARN sin proteínas que infecta a vegetales
- concepto de prion: partícula proteica infectante, sin ácido nucleico que causa enfermedades en animales como la encefalitis espongiforme (mal de la vaca loca)

2.2 Clasificación

Considerando su organización celular la clasificación actual de los microorganismos podría ser:

1. Protistas (eucarióticos) que incluye:

- Algas
- Protozoarios
- Hongos
- Mohos del cieno (incluidos algunas veces en los hongos).

2. Procariotas que incluye:

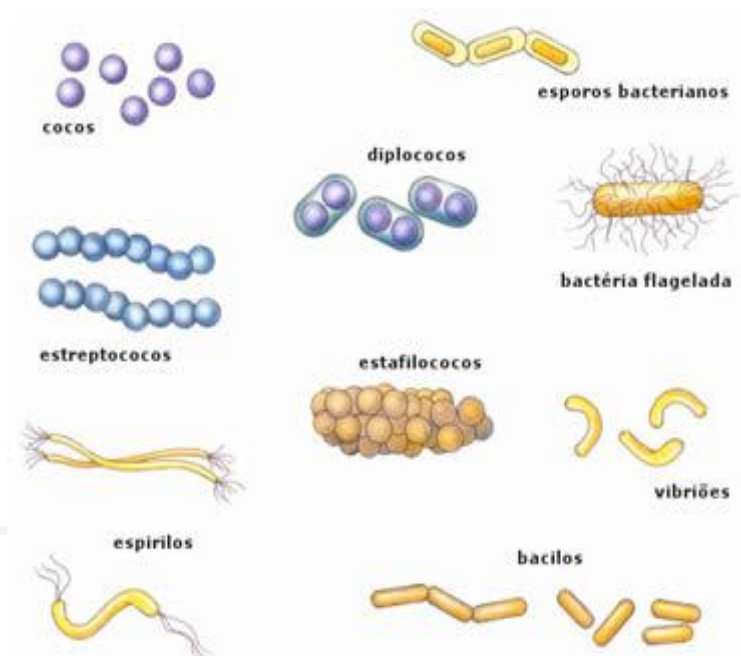
- Bacterias
- Cianobacterias
- Arqueobacterias

Los microbiólogos estudian cinco grupos principales: Algas, protozoarios, hongos, bacterias y virus. Los virus no llegan ni siquiera a ser células, únicamente cuando se encuentran en asociación con una célula el virus adquiere los atributos del sistema vivo.

✚ Bacterias

Algunas bacterias al dividirse se separan, otras se agrupan en pequeños racimos o cadenas. Esta propiedad de agruparse en formas particulares ha servido para diferenciar varios géneros de bacterias. Así las formas particulares son:

- Cocos



- Bacilos
 - Espirilos
 - Espiroquetas
 - Formas filamentosas
- Cocos. Este grupo a su vez se divide en:
 - Diplococos: A los cocos que permanecen agrupados en simples parejas.
 - Estreptococos: A los cocos cuando se agrupan formando cadenas (strepto = cadena).
 - Estafilococos: A los cocos cuando forman verdaderos racimos (staphls = racimo).
 - Sarcinas: A la agrupación de cocos que adopta una forma cúbica (en forma de dado), como si estuvieran contenidos dentro de un dado de paredes transparentes o invisibles.
 - Bacilos. Pueden crecer aislados, en parejas (diplobacilos) unidos por uno de los extremos o en cadenas (estreptobacilos) e hileras paralelas (palizadas).
 - Espirilos. Pueden aparecer agrupados formando cadenas cortas, pero esto no es frecuente.
 - Espiroquetas. Siempre se presentan aisladas.
 - Formas filamentosas (Trichobacterias). Las formas filamentosas aparecen aisladas, enmarañadas y en ocasiones constituyendo una especie empalizada.

Las bacterias también pueden clasificarse según la naturaleza de los alimentos que utilizan para subsistir distinguiéndose dos grupos:

- Saprofíticas: viven a expensas de materiales orgánicos en descomposición, o normalmente en el organismo humano o animal, especialmente en el tubo digestivo, donde se desarrollan a costa de las materias en putrefacción y, en ocasiones ayudan a la terminación de las operaciones de asimilación.
- Parásitas: Son aquellas bacterias que para vivir utilizan los tejidos del ave o animal en que habitan.

Como se ha mencionado antes, también las bacterias se diferencian por la demanda de oxígeno, distinguiéndose las bacterias, anaerobias, anaerobias facultativas, aerobias, aerobias facultativas.

Clasificación de los hongos

Los hongos verdaderos (Eumycetes) se clasifican en cuatro clases, que se distinguen principalmente por sus modalidades de reproducción.

- según la forma de crecimiento y estructura
 - levaduras

- filamentosos
- dimorficos
- según el tipo de reproducción
 - Imperfectos (realizan reproducción de tipo asexual)
 - Perfectos (realizan reproducción de tipo sexual)
- Estructura y morfología: (levaduriforme, filamentosa, dimórfica)
 - Levaduriforme. Son hongos unicelulares de forma oval, inmóviles que se reproducen por gemación, bipartición o un proceso intermedio entre ambas.
 - Filamentosa. Son hongos pluricelulares, formados por estructuras tubulares denominadas hifas; las que se desarrollan, ramifican y entrelazan conformando una estructura llamada Micelio.

✚ Clasificación de los virus

La clasificación de los virus está relacionada con el material genético que posean

2.3 Reproducción

✚ Bacterias

Se multiplican por fisión binaria (tipo de reproducción asexual, donde la replicación es lineal, comenzando en un extremo de la cadena de ADN y terminando en el otro, decimos que es semiconservadora ya que c/u de las cadenas complementarias sirven de molde para la síntesis de otra).

Crecimiento microbiano. Entendemos por **crecimiento microbiano** el aumento del número de microorganismos a lo largo del tiempo. Por tanto, no nos referimos al crecimiento de un único microorganismo que denominaremos *ciclo celular*, sino al demográfico de una población.

Crecimiento microbiano en medios líquidos. Si la bacteria crece en un medio líquido, en la mayoría de los casos las células que se producen en cada división continúan su vida independientemente formándose una **suspensión** de células libres.

En un cultivo discontinuo de bacterias en medio líquido, se pueden diferenciar cuatro fases en la evolución de los parámetros que miden el crecimiento microbiano:

1.- **Fase de adaptación** durante la que los microorganismos adaptan su metabolismo a las nuevas condiciones ambientales (abundancia de nutrientes y condiciones de cultivo) para iniciar la fase de crecimiento exponencial.

2.- **Fase exponencial o logarítmica:** en ella la velocidad de crecimiento es máxima y el tiempo de generación es mínimo. Durante esta fase las bacterias consumen a velocidad máxima los nutrientes del medio. La evolución del número

de células durante esta fase se explica con los modelos matemáticos que describiremos a continuación.

3.- **Fase estacionaria:** en ella no se incrementa el número de bacterias (ni la masa u otros parámetros del cultivo). Las células en fase estacionaria desarrollan un metabolismo diferente al de la fase exponencial y durante ella se produce una acumulación y liberación de metabolitos secundarios que pueden tener importancia industrial.

Los microorganismos entran en fase estacionaria porque se agota algún nutriente esencial del medio o porque los productos de desecho que han liberado durante la fase exponencial hacen que el medio sea inhóspito para el crecimiento microbiano. La fase estacionaria tiene gran importancia porque probablemente represente con mayor fidelidad el estado metabólico real de los microorganismos en los ambientes naturales.

4.- **Fase de muerte:** se produce una reducción del número de bacterias viables del cultivo.

Crecimiento microbiano en medio sólido. Las fases, parámetros y cinética de crecimiento discutidas para el caso de los cultivos líquidos se presentan también en cultivos sólidos. La cinética de crecimiento, en este caso, se puede estudiar siguiendo la evolución del número de células viables por unidad de superficie o por unidad de masa.

Cuando una célula aislada e inmóvil comienza a crecer sobre un substrato sólido, el resultado del crecimiento al cabo del tiempo es una **colonia**. Por consiguiente, se denomina **unidad formadora de colonia (UFC)** a una célula bacteriana viva y aislada que si se encuentra en condiciones de substrato y ambientales adecuadas da lugar a la producción de una colonia en un breve lapso de tiempo. Si el número inicial de bacterias por unidad de superficie es muy alto, la confluencia de las colonias da lugar a lo que se llama un **césped** cuando se realizan los cultivos en placas de laboratorio.

En el caso de microorganismos móviles (**deslizantes**) o en el de los hongos filamentosos que tienen un **crecimiento trófico** no se producen colonias aisladas sino formaciones más difusas o miceliares.

Muerte de un microorganismo. Desde el punto de vista microbiológico, un microorganismo muere cuando pierde de forma irreversible la capacidad de dividirse. Como consecuencia de esta pérdida, no se produce aumento en el número de microorganismos y, por tanto, no hay crecimiento. Sin embargo, un microorganismo puede estar muerto desde el punto de vista microbiológico y continuar desarrollando una actividad metabólica que se traduzca, por ejemplo, en liberación de toxinas.

Por otra parte, hay que considerar que la capacidad de multiplicación (crecimiento) de un microorganismo puede verse transitoriamente afectada por lesiones o por las condiciones físicas o químicas del entorno. En estos casos, podríamos considerar como muertos microorganismos que pueden reanudar su crecimiento si las condiciones son de nuevo favorables.

Hongos

Los hongos pueden reproducirse de forma sexual (hongos perfectos) o asexual (hongos Imperfectos).

Los hongos producen varios tipos de esporas asexuales: conidias, esporangios, zoosporas, artrosporas y oidios. La formación de esporas sexuales sigue modalidades diferentes en los distintos hongos: zoosporas, zigosporas, ascosporas.

Las esporas son elementos de reproducción y resistencia que se forman por condensación del citoplasma y contenido nuclear, de manera que de una célula madre se origina 4 o más elementos hijos (cada uno de los cuales contiene una parte del núcleo primitivo); las esporas están envueltas por una cubierta resistente (consistente en 2 membranas, una interna y otra externa) y pueden albergar una o más células divididas por septos. Poseen un esporo germinativo de donde surgirá una nueva hifa en el momento del desarrollo. Se distinguen los siguientes tipos:

- Exosporas o conidios: Esporas asexuales que nacen por brotación en el extremo de un filamento de micelio; según su tamaño se designarán como micro o macroconidios.
- Endosporas o gonidios : Son esporas que se forman en el interior del esporangio (vesícula que contiene esporas)
- Clamidiosporas : Son esporas asexuales de pared gruesa y en reposo
- Cigosporas : Son esporas formadas por la conjugación entre los filamentos de micelio

La reproducción puede ser de dos tipos:

- Por oidios : Estadio imperfecto de los hongos de la familia Erysiphaceae que permite el crecimiento por separación de una parte del micelio y posterior reproducción por gemación (reproducción asexual)

Asexual: La realizan los denominados hongos imperfectos. Se da a partir de un micelio, sin conjugación nuclear, ni reducción de cromosomas. Puede llevarse a cabo por:

- Brotación o gemación. Consiste en la formación de una yema en una determinada zona de la célula madre; a medida que la célula hija aumente de tamaño se irá separando de la célula madre.
- Bipartición (Esporulación – Germinación). Mediante este mecanismo se forman esporas que luego, en un medio adecuado, germinarán.

- Fragmentación: Por este mecanismo las hifas se fragmentan y c/u de esos fragmentos crecerá y regenerará, dando origen a una nueva colonia.
- Sexual: Este tipo de reproducción la realizan los denominados hongos perfectos. Consiste en fusión de dos núcleos haploides sexualmente diferentes, de la unión surge una célula diploide (zigoto) que por división meiótica originará 4 células haploides, las cuales se rodean por una gruesa cubierta constituyendo las esporas (ej. zigosporas, ascosporas, oosporas).

Virus

Los virus se reproducen por replicación viral. Los virus carecen de metabolismo y se comportan como partículas inertes en medios inanimados, pero dentro de las células susceptibles, el ácido nucleico viral emplea los mecanismos de biosíntesis celular para replicarse e inducir la síntesis de proteínas específicas que posteriormente se integrarán al genoma replicado para originar nuevos organismos, los cuales se liberarán de la célula huésped para luego infectar otras células.

2.4 Parámetros intrínsecos y extrínsecos relacionados con el desarrollo microbiano

3. ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS

3.1 Enfermedades transmitidas por bacterias

3.2 Enfermedades transmitidas por virus

3.3 Enfermedades transmitidas por hongos

4. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA

4.1 Método de detección de mesófilos aerobios

4.2 Método de detección de coliformes fecales

4.3 Método de detección de *Escherichia coli*

IV. ACTIVIDADES DE APRENDIZAJE
