

Microbiología de predicción:

una base de conocimiento para asegurar la calidad de los alimentos

Carlos Rolz
Asturias

Resumen

En el presente artículo se describen las características generales de los modelos matemáticos que se han desarrollado para predecir el crecimiento de los microorganismos patógenos en los alimentos, tanto frescos como procesados, y se ilustra la aplicación de algunos de ellos a través de una discusión de ejemplos seleccionados de la literatura.

Introducción

En la actualidad existe una contradicción en la industria de los alimentos. Por un lado están los consumidores, quienes demandan productos frescos o procesados al mínimo con las características siguientes: que no contengan aditivos químicos como preservantes, que mantengan las cualidades nutricionales intactas, que resalten las propiedades sensoriales, como sabor y aroma propios del producto, y que por supuesto, sean seguros para la salud humana. Por el otro, están los riesgos de contaminación inherentes a toda la cadena productora de los alimentos, es decir, *el sistema productivo que va desde el campo hasta llegar al consumidor*. Dichos riesgos son mayores al simplificar el proceso en cualquiera de sus etapas. La industria

de alimentos, entonces, ha tenido que adaptarse, y continúa ajustándose, a las demandas del mercado consumidor, y se ha visto obligada a desarrollar estrategias y herramientas que le permitan llegar a un compromiso en la operación.

- La microbiología de predicción

La industria de alimentos ha empleado el análisis microbiológico como una herramienta de control de la calidad, pero lo ha hecho en forma retrospectiva. Es decir, generalmente se ha aplicado en muestras del material producido con cierta antelación, lo que imposibilita cualquier acción correctiva en el sistema de producción. Con el objeto de anticiparse a los hechos, se desarrollaron herramientas que permitieron, por un lado, efectuar un análisis cualitativo de los peligros y la identificación de los puntos críticos de control, y por el otro, la estimación cuantitativa del riesgo de una posible contaminación microbiana¹. Estas dos herramientas han permitido tomar acciones para prevenir en el proceso alguna contaminación posible. Hay que indicarle al lector que *prevenir no significa evitar con certeza*, de manera que el riesgo de contaminación aún podría persistir. La microbiología de predicción, que básicamente consiste en aplicar modelos matemáticos para predecir el crecimiento o la supervivencia de microorganismos patógenos, es una metodología de cálculo que necesariamente debe emplearse para encarar y manejar de una mejor forma el posible riesgo de una contaminación. Un artículo reciente describe en detalle los conceptos anteriores (1).

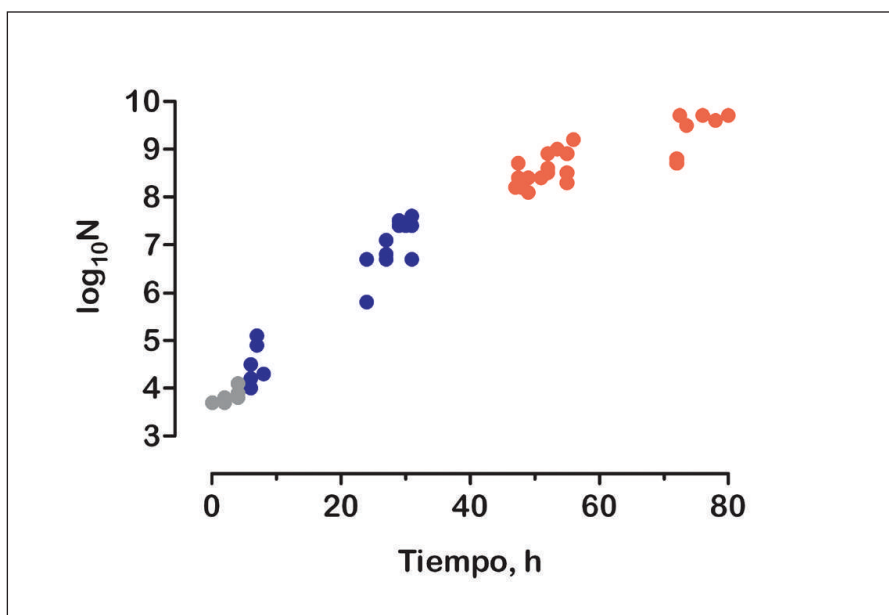
- Modelos matemáticos

Los modelos propuestos intentan por un lado, describir el crecimiento, o la supervivencia, de los microorganismos patógenos en términos cinéticos o de cambio, y por el otro, buscan estimar la probabilidad de que exista, o no, un crecimiento específico y el riesgo hacia la salud humana (1). La estrategia no sólo se ha circunscrito a cuantificar el crecimiento, o la supervivencia, *per se*, en función de las condiciones propias del alimento en sí, y de la variable física en el proceso que causa tal fenómeno, por ejemplo, la temperatura en los procesos térmicos tradicionales, sino que también, por medio de simulaciones y de parámetros definidos en términos de probabilidades, a definir el riesgo existente en una amplia gama de posibles escenarios.

Enfoque

A continuación se comentarán los siguientes aspectos: a) los microorganismos patógenos frecuentemente encontrados en los alimentos, b) cuáles son los patrones de crecimiento y supervivencia de los microorganismos en los alimentos, c) los modelos cinéticos de crecimiento y supervivencia recomendados, d) descripción de dos ejemplos específicos de este tipo de modelos, e) características de los modelos de probabilidad y un ejemplo de una aplicación, y f) breve explicación del rol de dichos modelos en la evaluación global del riesgo.

¹Conocidos como HACCP y QMRA por sus siglas en inglés, respectivamente.



Gráfica 1. Crecimiento de *E. coli* O26 en carne de pollo cocida (4). La letra N se refiere a la concentración de la bacteria por unidad másica del alimento. Los datos provienen de una prueba repetida tres veces. Los símbolos grises identifican el período de ajuste. El trazo azul del círculo representa el crecimiento exponencial y el trazo rojo el período de estancamiento.

• ¿Cuáles microorganismos?

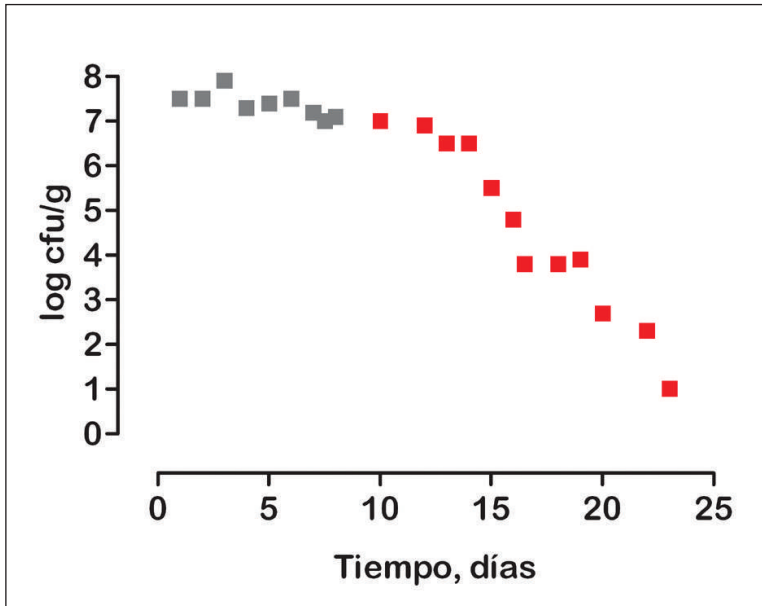
Un amplio espectro de microorganismos patógenos puede contaminar los alimentos y las fuentes de agua causando graves riesgos para la salud humana. Eventos recientes de contaminación que trascienden fronteras han alertado a los sistemas de vigilancia, quienes buscan garantizar la calidad y la seguridad alimenticia desde una zona productora hasta un mercado consumidor. Resaltan, las contaminaciones con bacterias como *Escherichia coli* entero-hemorrágica O157:H7, *Salmonella enteritidis*, *Yersinia enterocolitica* y *Listeria monocytogenes*, entre otras. Inesperadamente, han ocurrido también casos de contaminación por parásitos protozoarios patógenos como la *Cyclospora cayetanensis* y el *Cryptosporidium parvum*, asociados principalmente a productos con un procesamiento mínimo y a su vez comercializados internacionalmente. Se recomienda consultar los artículos de

Tauxe (2) y de Schlundt (3), quienes ofrecen una perspectiva detallada y descriptiva del problema.

- Los patrones de crecimiento y supervivencia de los microorganismos

La Gráfica 1 muestra datos experimentales del crecimiento de una bacteria en un alimento.

Se observan varias tendencias con respecto al tiempo: a) un periodo inicial de ajuste, b) un crecimiento exponencial, cuya pendiente es la tasa de crecimiento, y c) un marcado período de estancamiento. No se trazó la línea que representa la tendencia sugerida por los puntos experimentales, con el objeto de



Gráfica 2. Supervivencia de *E. coli* O157:H7 NCTC 12900 en una ensalada de berenjena a un pH de 4 ajustado con jugo de limón (5). Las letras cfu/g se refieren a la concentración de la bacteria por gramo de ensalada. Los cuadrados grises identifican el período de ajuste. El trazo de cuadrados rojos pertenecen a la supervivencia exponencial.

mostrar al lector que la separación de las tres fases del crecimiento mencionadas anteriormente, no es diáfana ni perfecta.

La Gráfica 2 muestra datos experimentales de supervivencia de una bacteria en un alimento.

En este caso, se observan por lo menos dos comportamientos: a) un periodo inicial de ajuste, y b) un periodo de disminución exponencial de la concentración del microorganismo cuya pendiente es la tasa de supervivencia. Los dos ejemplos mostrados son típicos de lo que puede observarse en la práctica. Los modelos cinéticos intentan reproducir matemáticamente los cambios mostrados. Se han propuesto modelos para el crecimiento y por aparte también se han propuesto modelos para la

supervivencia. En ambos tipos, los modelos basados en la propuesta original de Monod permiten estimar las tasas de cambio, i.e. la tasa de crecimiento y la tasa de supervivencia, en dependencia de las variables usuales, la concentración del microorganismo y el tiempo. Los parámetros de los modelos, por el contrario, se expresan en función de variables externas que afectan la respuesta. Entre estas variables se encuentran aquéllas propias del alimento, como acidez y humedad. También variables ambientales, por ejemplo la temperatura y la composición de la atmósfera en el empaque².

El valor de los parámetros del modelo tiene que estimarse de datos experimentales, ya que no es posible calcularlos por medio de una teoría fundamental³.

²Los modelos propuestos pueden ser algebraicamente complejos. Es normal que el lector se pregunte si no es ambicioso e improbable que un modelo pueda describir satisfactoriamente el comportamiento de cualquier microorganismo, sea bacteria u hongo, en diferentes alimentos, procesos y empaques. La duda es válida y se resalta este hecho únicamente para ilustrar lo complicado que puede ser esta tarea.

³El valor de los parámetros se estima empleando algoritmos de regresión no lineal. La mayoría de logicales comerciales ofrecen alternativas como los algoritmos de Gauss-Newton y el Simplex de Nelder y Mead. Al emplear cualquiera de ellos es importante la selección de los valores iniciales. De eso depende el éxito de la convergencia del cálculo numérico.

Sin embargo, algunos de ellos pueden tener un significado biológico, recordando a Monod, por lo tanto los modelos son de naturaleza cuasi empírica.

- Modelos cinéticos de crecimiento recomendados

Recientemente Baty & Delignette-Muller (6) y López *et al* (7) compararon el comportamiento de ajuste de varios modelos empleando datos experimentales de diferentes fuentes. Los primeros investigadores exploraron tres modelos y el que mejor ajustó todos los datos experimentales fue el de Baranyi. Por otro lado, el modelo de Gompertz, empleado bastante en la práctica, fue el menos consistente. López *et al* (7) coincidieron con las apreciaciones anteriores, sin embargo, recomendaron también el empleo del modelo de Weibull⁴.

- Modelos cinéticos recomendados de supervivencia

La mayoría de modelos se han ajustado con datos experimentales de supervivencia térmica. Puede decirse que a la fecha existen dos propuestas de recomendaciones. Por un lado, Peleg & Cole (8) proponen y recomiendan un

modelo del tipo de la ley de potencia, en donde la supervivencia se calcula empleando la fórmula acumulativa de la distribución de Weibull. El concepto ha sido también aplicado a datos de supervivencia cuando el microorganismo ha estado sujeto al efecto de un agente no térmico (9). La segunda propuesta, emplea un modelo de Baranyi de crecimiento, extendido para contemplar la supervivencia (10). Se cree que todavía no existe la suficiente experiencia y evidencia para llegar a una recomendación preferencial⁵.

- Descripción de ejemplos en los que se han aplicado modelos cinéticos

Presser *et al* (12) presentaron datos del crecimiento de *E. coli* M23 (cepa no patógena) en medios líquidos de cultivo, realizados a temperatura de 20°C, bajo diferentes valores del pH inicial y concentraciones de ácido láctico, que permitieron estimar la proporción de ácido disociado y no disociado⁶.

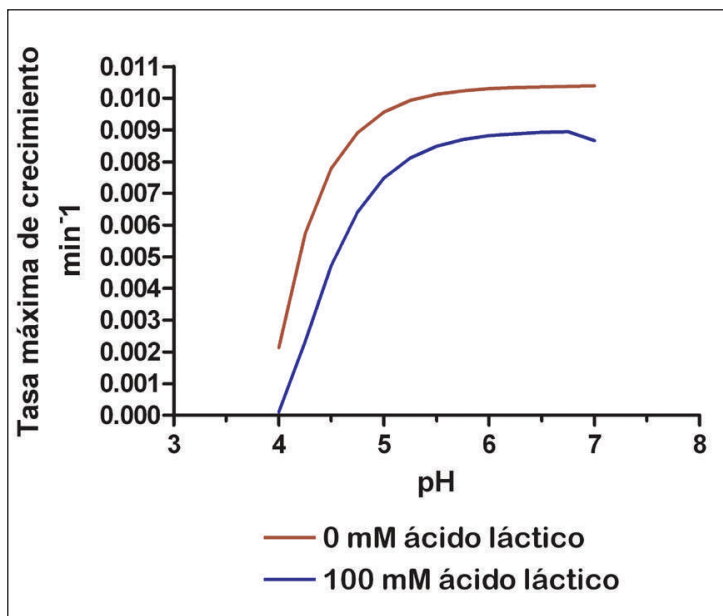
Los datos turbidimétricos obtenidos para estimar el crecimiento bacteriano fueron ajustados al modelo de Gompertz modificado. Con el modelo se estimó el valor de la tasa de crecimiento máximo.

⁴ Existen logicales disponibles sin costo que permiten ajustar datos experimentales a varios modelos. El Pathogen Modeling Program Version 7.0 del EERC-USDA www.arserrc.gov/mfs/pathogen.htm. El DMFit Version 2.0 del IFR-UK permite obtener la tasa de crecimiento empleando el modelo de Baranyi y Roberts www.ifr.ac.uk/safety/DMFit. El FoodMicroModel del IFR-UK permite predecir el crecimiento de algunos microorganismos patógenos en función de condiciones ambientales www.ifr.ac.uk/safety/GrowthPredictor. El MicroFit Version 1.0 del IFR-UK permite ajustar datos experimentales y obtener los parámetros básicos www.ifr.ac.uk/microfit. El Seafood Spoilage predictor (SSSP) Version 2.0 del DIFR-MFAF-Denmark www.dfu.min.dk/micro/sssp/Home/Home.aspx permite predecir la vida de anaquel y el crecimiento de microorganismos patógenos en productos alimenticios del mar. Existe también una base de datos que contiene información sobre el crecimiento, la supervivencia y la inactivación de bacterias bajo diversas condiciones relevantes a operaciones encontradas en el procesamiento de los alimentos <http://wyndmoor.arserrc.gov/combase>.

⁵ Recientemente ha sido publicado un número de complemento de la revista *Journal of Food Science* dedicado exclusivamente a revisar los modelos cinéticos de supervivencia microbiana aplicables para procesos de tecnologías alternas a la térmica. Específicamente tecnologías empleando frecuencias de radio y microondas, calentamiento óhmico, uso de presión alta, campos eléctricos pulsantes, descargas de alto voltaje, luz pulsante, campos magnéticos oscilantes, luz ultravioleta, el ultrasonido y los rayos X (11).

⁶ En la industria de alimentos es usual disminuir el pH para reducir el riesgo que sobre la salud humana provocaría el crecimiento de un microorganismo patógeno. Recientemente se han encontrado cepas patógenas de *E. coli* ácido tolerantes (13,14), hecho que resalta la importancia práctica de este trabajo.

Luego se desarrolló un nuevo modelo para expresar la tasa máxima de crecimiento en función de la actividad del agua, la temperatura, el pH y las concentraciones de ácido láctico, disociado y no disociado. Para las dos primeras variables se emplearon funciones del tipo Belehrádek, y para las dos restantes, módulos algebraicos propuestos por los autores. En la Gráfica 3 se ofrecen los resultados de la tasa máxima de crecimiento estimada para cultivos sin ácido láctico y con una concentración inicial de 100 mM de ácido, para varios valores del pH inicial.



Gráfica 3. Predicción del modelo de Presser *et al.* (12) de la tasa máxima de crecimiento de *E. coli* M23 a 20 oC en función del pH inicial y de la concentración de ácido láctico.

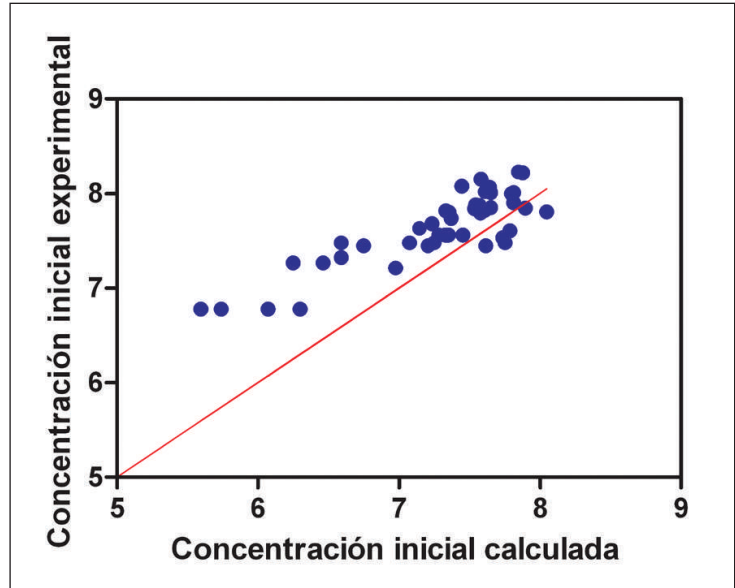
Pueden identificarse en la gráfica las tendencias siguientes: a) la concentración de ácido láctico reduce la tasa máxima de crecimiento para todos los valores de pH ensayados, b) se observa que la tasa máxima de crecimiento no es cero aún por debajo de un pH inicial de 4.5, respectivamente de la concentración de ácido láctico agregado, y c) la reducción causada por el ácido láctico a valores altos del pH se debe a la presencia de ácido disociado; por el contrario a valores bajos del pH, al ácido no disociado.⁷

Estos resultados son de importancia en la industria de la carne vacuna. Dicho producto naturalmente contiene de 10 a 100 mM de ácido láctico y un pH entre 5 y 6. El riesgo de contaminación, por la presencia de heces, es alto durante el corte, el lavado, y el almacenamiento de la carne. El modelo ha sido recientemente modificado y validado con datos experimentales obtenidos en carne propiamente dicha (16,17).

Skandamis & Nychas (5) estudiaron la supervivencia de *E. coli* O157:H7 NCTC 12900 en una ensalada de berenjena de manufactura casera, ajustada a un pH ácido con jugo de limón, complementada con diferentes concentraciones del aceite esencial del orégano, almacenada a diferentes temperaturas, todas debajo de 15°C, e inoculada con una concentración conocida de la bacteria. Datos experimentales de esta referencia se utilizaron para construir la Gráfica 2 comentada anteriormente en el texto. Los autores emplearon el modelo de Baranyi para ajustar el conjunto de datos

⁷ Los ácidos orgánicos como el láctico disminuyen el pH por la producción de iones hidrógeno, pero a diferencia de los ácidos minerales fuertes, no se disocian por completo. La molécula del ácido no disociada se cree que causa un efecto inhibitorio significativo (15). La concentración de la forma no disociada es mayor a bajos pH. El presente modelo define en su estructura efectos inhibitorios a las dos formas del ácido.

obtenidos a las diferentes condiciones experimentales y obtuvieron el valor de los tres parámetros pertinentes del modelo. Uno de los parámetros fue la tasa de supervivencia equivalente a la pendiente de la curva en el periodo de disminución exponencial de la concentración de microorganismos con respecto al tiempo. Los otros dos parámetros fueron: a) la estimación de la concentración inicial del microorganismo, y b) la duración del período de ajuste, es decir, el tiempo transcurrido antes de que iniciara la disminución exponencial antes aludida, o como lo llaman algunos autores, el *hombro* que resalta al observar el trazo de los puntos experimentales; se recomienda al lector a identificarlo en la Gráfica 2. En la Gráfica 4, se muestra cuan bien predice el modelo la concentración inicial del microorganismo, al comparar el valor estimado con el experimental, el cual se conoce.

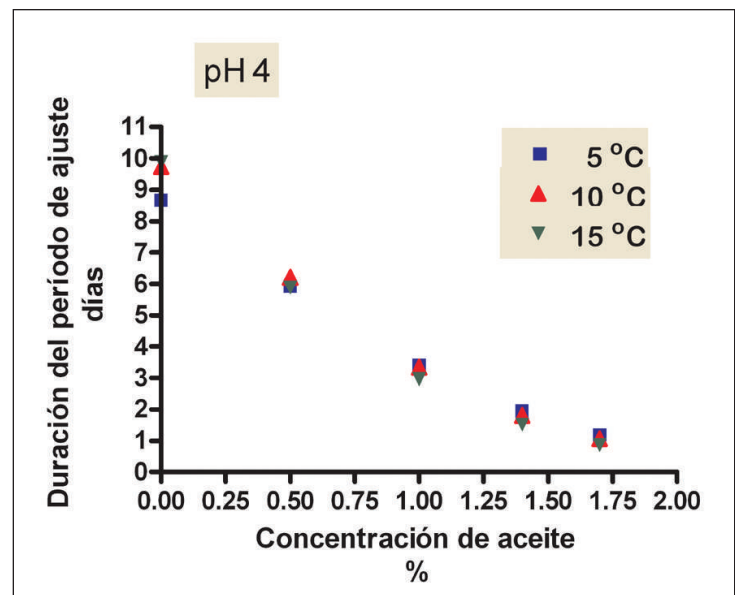


Gráfica 4. Comparación entre la concentración inicial de microorganismos que fue experimentalmente añadida y la misma concentración estimada por el modelo de Baranyi.

El trazo de círculos azules que se encuentran en, o muy cerca de, la línea roja, identifican una predicción perfecta del modelo.

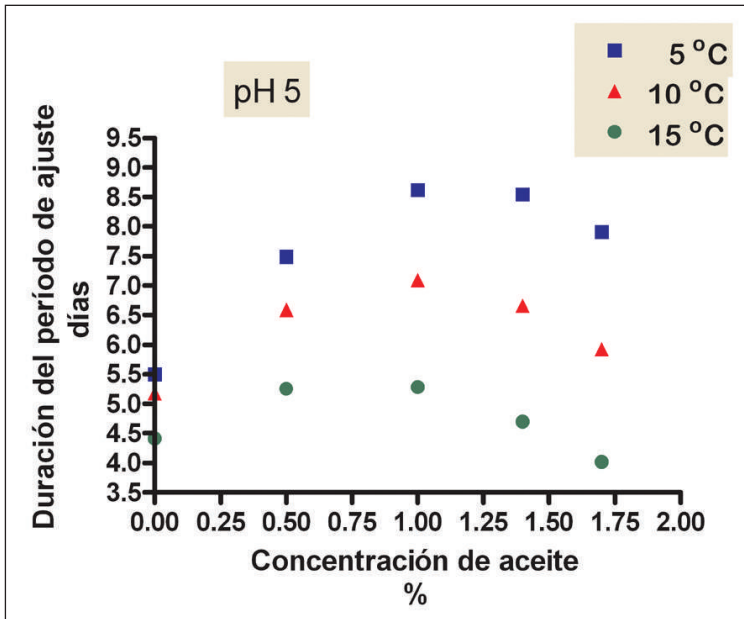
Puede observarse claramente que el modelo funciona adecuadamente cuando la concentración inicial es alta. Para las bajas concentraciones el modelo predice siempre una concentración menor a la adicionada en el inóculo. Luego de este ajuste, los autores empleando técnicas de superficie de la respuesta, expresaron la duración del periodo de ajuste en función de la temperatura, el pH y la concentración de aceite esencial del orégano⁸.

En la Gráfica 5, se observa claramente que a un pH de 4, el tiempo de ajuste disminuye drásticamente conforme la proporción de aceite esencial del orégano



Gráfica 5. Relación entre la duración del periodo de ajuste y la concentración del aceite esencial del orégano, a un pH de 4 y tres diferentes temperaturas.

⁸ Conviene enfatizar que experimentalmente se busca que el periodo de ajuste sea el menor posible. En otras palabras, se desea que la concentración del microorganismo patógeno en el alimento empiece a disminuir lo más pronto, y rápidamente posible.



Gráfica 6. Relación entre la duración del período de ajuste y la concentración del aceite esencial del orégano, a un pH de 5 y tres diferentes temperaturas.

se incrementa en la formulación, respectivamente de la temperatura empleada.

Este resultado indica que existe una acción bactericida combinada entre un pH bajo y el aceite esencial. Ha sido demostrado experimentalmente que algunos componentes de los aceites esenciales como el carvacrol, el timol, y el eugenol son potentes bactericidas y el lector puede consultar un reciente artículo de revisión al respecto (18) si desea informarse más. En este tipo de productos alimenticios la adición de especies es parte de la formulación, de manera que la adición de un aceite esencial de una de ellas, no provoca cambios en las características organolépticas del alimento, ni rechazo por parte de los consumidores. En la Gráfica 6, se presentan datos calculados por el modelo similares pero a un pH de 5.0.

Puede observarse que la situación acá es totalmente diferente. La acción bactericida del aceite esencial reduciendo el tiempo de ajuste, se presenta únicamente a altas concentraciones del mismo, y es más notoria cuanto más alta sea la temperatura. Skandamis y Nychas (5) proponen algunas causas que originan la resistencia mostrada por esta bacteria a bajas temperaturas.

• Modelos de probabilidad

Se han propuesto técnicas de análisis y modelos para predecir la interfase que existe entre el crecimiento de un microorganismo patógeno y la inhibición del mismo para crecer, en función de variables propias del alimento y del proceso. La diferencia fundamental con los modelos anteriormente descritos, es que aquellos pretenden estimar la tasa de crecimiento, o parámetros asociados a la tasa, y estos, por el contrario, intentan predecir la ocurrencia del crecimiento. La técnica de análisis más empleada para ajustar el

modelo a los datos experimentales ha sido la regresión logística, cuya función calcula la probabilidad asociada al evento⁹. Sin embargo, también se ha aplicado el análisis de supervivencia para modelar el tiempo de ajuste entre el momento de la inoculación del microorganismo patógeno en el alimento, y el momento en que se observa un crecimiento neto (21).

- Ejemplo de aplicación de un modelo de probabilidad

López-Malo y Palou (22) prepararon manualmente puré de mango, ajustaron la actividad del agua (a_w) con sacarosa, adicionaron como agentes preservantes 1,000 ppm de sorbato de potasio o benzoato de sodio, lo empacaron en bolsas estériles de polietileno y lo

T °C	P : 0.10	P : 0.05
5	47	40
10	20	17
15	11	9
20	7	5

Cuadro 1. Tiempo en días calculado por el modelo al cual se tiene una probabilidad P de observar crecimiento en puré de mango con una $a_w = 0.98$ y la adición de 1000 ppm de sorbato de sodio, almacenado a cuatro diferentes temperaturas.

T °C	P : 0.10	P : 0.05
5	23	20
10	10	8
15	6	4
20	3	2

Cuadro 2. Tiempo en días calculado por el modelo al cual se tiene una probabilidad P de observar crecimiento en puré de mango con una $a_w = 0.98$ y la adición de 1000 ppm de benzoato de sodio, almacenado a cuatro diferentes temperaturas.

⁹ La regresión logística se ha aplicado frecuentemente en investigaciones clínicas y en estudios de econometría. Los datos experimentales, que son de naturaleza discontinua, se ajustan por un criterio de máxima semejanza, técnica encontrada en la mayoría de logísticas comerciales. Una breve introducción y aplicaciones en las dos temáticas anteriores, pueden consultarse, por ejemplo, en los textos de Rabe-Hesketh & Everitt (19) y el de Mukherjee et al (20).

almacenaron a diferentes temperaturas. Previo al empaque, se inoculó un cultivo normalizado de la levadura *Zygosaccharomyces bailii*, una cepa osmotolerante. Luego de diferentes días se observaron las bolsas en forma individual obteniéndose una evaluación de si hubo o no, crecimiento por una apreciación visual. Los datos obtenidos y clasificados en una de las dos categorías, se ajustaron con una función logística que incluyó factores primarios y de interacción binaria entre las variables. En los Cuadros 1 y 2, se han resumido algunos de los resultados obtenidos con la simulación del modelo.

En la segunda y tercera columnas se encuentran los valores del tiempo en días que puede almacenarse el puré de mango a diferentes temperaturas sin que se observe un crecimiento neto de la levadura¹⁰.

Las siguientes tendencias pueden observarse: a) al disminuir la temperatura, el tiempo aumenta, especialmente al bajar de 10oC, b) el sorbato de potasio es un mejor agente preservante que el benzoato de sodio, permite mayores tiempos a condiciones iguales, y c) una probabilidad de crecimiento menor implica un mayor margen de seguridad en el producto, aunque esto implique menores tiempos de almacenamiento.

- Rol de los modelos de crecimiento y/o supervivencia y probabilidad en el aseguramiento del riesgo

El aseguramiento de la inocuidad de los alimentos en toda la cadena productora, desde *el campo hasta llegar al tenedor*, ha implicado la evaluación cuantitativa del riesgo inherente en cada una de las etapas u operaciones. Es decir, la estimación de la probabilidad de que después de consumir un alimento se manifiesten síntomas adversos para la salud humana¹¹.

La naturaleza de una población microbiana en un alimento se ha considerado dinámica y su comportamiento al azar. Por lo tanto, ha predominado una dosis apreciable de incertidumbre en un modelo descriptivo que abarque por completo la cadena productora de alimentos y que tenga como objetivo, una administración prudente del riesgo. Sin embargo, es un área de constante investigación y progreso. Se refiere al lector a tres trabajos ilustrativos. El primero, de Lindqvist y colaboradores (24) que determinaron un modelo para evaluar el riesgo del crecimiento de *Staphylococcus aureus* en queso fresco. El segundo, es de Nauta y colaboradores (25) quienes estudiaron el sistema *Bacillus cereus* en un puré elaborado a base de hortalizas y comercializado bajo refrigeración. Y,

¹¹ Para llevar a cabo dicha estimación es imprescindible contar con información relacionada con: a) la respuesta del ser humano a diferentes dosis de infección, o curva dosis-reacción, consultar sobre este concepto en www.codexalimentarius.net/web/index_es.jsp (CAC/GL 30, 1999, *Principios y directrices para la aplicación de la evaluación de riesgos microbiológicos*) y un ejemplo específico en el reciente artículo de Powell et al. (23), b) la concentración de microorganismo que se considera aceptable en el alimento, de lo cual todavía no existe un consenso para todos los casos, por ejemplo en algunos países para varios microorganismos existen normas de *tolerancia cero*, y en otro grupo de países, se permite una carga mínima del microorganismos en cuestión por unidad de peso de producto alimenticio, y c) una cuantificación del grado de exposición y la proporción de la población en riesgo, ambos elementos con una alta incertidumbre en su estimación.

¹² En la simulación probabilística los parámetros no tienen un solo valor. Por el contrario, adoptan valores de una distribución estadística previamente fijada. El modelo así expresado se simula extensamente siguiendo un muestreo como el dictado por la técnica Monte Carlo. El análisis final se lleva a cabo interpretando las tendencias de cambio observadas. Si estas no coinciden con algunos datos experimentales que se tengan, o no son lógicas, se inicia de nuevo la simulación, generalmente cambiando la descripción estadística de los parámetros, la cual conlleva una buena dosis de arte.

finalmente, Havelaar y colaboradores (26) los cuales ejemplifican el sistema de *E. coli* en carne cruda o tártara preparada en establecimientos comerciales. En los tres ejemplos se utilizan modelos de crecimiento o supervivencia como parte de la estrategia matemática, la cual a su vez, es compleja y descansa en la simulación probabilística¹².

Comentarios finales

El trabajo de síntesis efectuado sobre el tema del artículo tuvo como objetivo poner de manifiesto y alertar sobre los avances logrados para describir y analizar un problema complejo de la industria de

los alimentos. Para cumplir con dicha misión se escogieron varios ejemplos, todos aplicados a unos casos específicos y enmarcados en la secuencia lógica de la presentación. No se presentaron ecuaciones de los modelos, lo cual se hizo a propósito, con el fin de enfocar la atención en la discusión de los resultados obtenidos y no en el detalle matemático, el cual, el lector interesado podrá consultar en las referencias. Tampoco, se hizo una revisión exhaustiva de la literatura al respecto, la que de por sí es extensa; seleccionándose, en cambio, algunas referencias que el autor ha creído pertinentes, ver Cuadro 3.

Microorganismo	Medio de cultivo	Variable de respuesta	Modelo	Factores estudiados	Referencia
<i>Staphylococcus aureus</i> 196E	Caldo nutritivo	Concentración bacteria	Crecimiento de Gompertz	Temperatura pH Concentración de NaCl	27, 28
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 CECT4076	Caldo nutritivo	Tasa de crecimiento y Tiempo de ajuste	Crecimiento de Baranyi y Roberts	Temperatura pH Concentraciones de NaCl y NaNO ₂	29
<i>Listeria monocytogenes</i>	Datos de catorce estudios en diferentes alimentos	Concentración bacteria	Crecimiento Función logística y de Rosso	Temperatura Tiempo de ajuste	30
<i>Bacillus cereus</i> INRA AVZ421	Caldo nutritivo	Concentración esporas	Supervivencia de Wiebull	Temperatura	31
<i>Clostridium botulinum</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	Datos de cuatro estudios en caldo nutritivo	Observación si hubo, o no hubo crecimiento	Probabilidad Logístico de tres factores completo	Temperatura Tiempo pH Concentración de NaCl	32
<i>Salmonella typhimurium</i>	Caldo nutritivo	Observación si hubo, o no hubo crecimiento	Probabilidad Logístico de cuatro factores completo	Temperatura pH Concentraciones de NaCl y sorbato de potasio	33

Cuadro 3.
Resumen de algunas referencias pertinentes a los temas tratados en el texto.

Bibliografía

- 1) McMeekin, T.A. & Ross, T. *Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management* Int. J. Food Microbiol. 78: 133-153, 2002
- 2) Tauxe, R.V. *Emerging foodborne pathogens* Int. J. Food Microbiol. 78: 31-41, 2002
- 3) Schlundt, J. *New directions in foodborne disease prevention* Int. J. Food Microbiol. 78: 3-17, 2002
- 4) Pinon, A. *et al. Development and validation of experimental protocols for use of cardinal models for prediction of microorganism growth in food products* Appl. Environ. Microbiol. 70: 1081-1087, 2004
- 5) Skandamis, P.N. & Nychas G-J E. *Development and evaluation of a model predicting the survival of E. coli O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations* Appl. Environ. Microbiol. 66: 1646-1653, 2000
- 6) Baty, F. & Delignette-Muller, M-L. *Estimating the bacterial lag time: which model, which precision?* Int. J. Food Microbiol. 91: 261-277, 2004
- 7) López, S. *et al. Statistical evaluation of mathematical models for microbial growth* Int. J. Food Microbiol. 96: 289-300, 2004
- 8) Peleg, M. & Cole, M.B. *Reinterpretation of microbial survival curves* Crit. Rev. Food Sci. 38: 353-380, 1998
- 9) Peleg, M. *Modeling and simulation of microbial survival during treatments with a dissipating lethal chemical agent* Food Research International 35: 327-336, 2002
- 10) Baranyi, J. *et al. A combined model for growth and subsequent thermal inactivation of Brochothrix thermosphacta* Appl. Environ. Microbiol. 62: 1029-1035, 1996
- 11) Anon, *Overarching principles: kinetics and pathogens of concern for all technologies* J. Food Sci. Suppl. 65: 16-29, 2000
- 12) Presser, K.A. *et al. Modelling the growth rate of Escherichia coli as a function of pH and lactic acid concentration* Appl. Environ. Microbiol. 63: 2355-2360, 1997

- 13) Glass, K.A. *et al.* Fate of *Escherichia coli* O157:H7 as affected by pH or sodium chloride and in fermented dry sausage Appl. Environ. Microbiol. 58: 2513-2515, 1992
- 14) Leyer, G.J. *et al.* Acid adaptation of *Escherichia coli* O157:H7 increases survival in acidic foods Appl. Environ. Microbiol. 61: 3752-3755, 1995
- 15) Shelef, L.A. Antimicrobial effects of lactates: a review J. Food Prot. 57: 445-450, 1994
- 16) Ross, T. *et al.* Modelling the effects of temperature, water activity, pH and lactic acid concentration on the growth rate of *E. coli* Int. J. Food Microbiol. 82: 33-43, 2003
- 17) Mellefont, L.A. *et al.* Performance evaluation of a model describing the effects of temperature, water activity, pH and lactic acid concentration on the growth of *E. coli* Int. J. Food Microbiol. 82: 45-58, 2003
- 18) Burt, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review Int. J. Food Microbiol. 94: 233-253, 2004
- 19) Rabe-Hesketh, S. & Everitt, B. *A Handbook of Statistical Analysis using Stata* Chapman & Hall/CRC, 2000, pp.77-90
- 20) Mukherjee, Ch. *et al.* *Econometrics and Data Analysis for Developing Countries* Routledge, 1998, pp.302-332
- 21) Evans, D.G. *et al.* Use of survival analysis and classification and regression trees to model the growth/no growth boundary of spoilage yeasts as affected by alcohol, pH, sucrose, sorbate and temperature Int. J. Food Microbiol. 92: 55-67, 2004
- 22) López-Malo, A. & Palou, E. Modeling the growth/no-growth interface of *Z. baillii* in mango puree J. Food Sci. 65: 516-520, 2000
- 23) Powell, M.R. *et al.* Dose-response envelope for *Escherichia coli* O157:H7 Quantitative Microbiol. 2: 141-163, 2000
- 24) Lindqvist, R. *et al.* Quantitative microbial risk assessment exemplified by *Staphylococcus aureus* in unripened cheese made from raw milk Int. J. Food Microbiol. 78: 155-170, 2002
- 25) Nauta, M.J. *et al.* A retail consumer phase model for exposure assessment of *Bacillus cereus* Int. J. Food Microbiol. 83: 205-218, 2003



Carlos E. Rolz Asturias
Maestro en Ciencias en el área
de ingeniería química en la
Universidad de California en
Berkeley, EEUU
Decano, Instituto de
Investigaciones, UVG

- 26) Havelaar, A.H. *Fine-tuning food safety objectives and risk assessment* Int. J. Food Microbiol. 93: 11-29, 2004
- 27) Eifert, J.D. *et al. Acetic, lactic and hydrochloric acid effects on Staphylococcus aureus 196E growth based on a predictive model* J. Food Sci. 62: 174-178, 1997
- 28) McCann, T.L. *et al. A predictive model with repeated measures analysis of Staphylococcus aureus growth data* Food Microbiol. 20: 139-147, 2003
- 29) García-Gimeno, R.M. *et al. An artificial neural network approach to Escherichia coli O157:H7 growth estimation* J. Food Sci. 68: 639-645, 2003
- 30) Pouillot, R. *et al. Estimation of uncertainty and variability in bacterial growth using Bayesian inference. Application to Listeria monocytogenes* Int. J. Food Microbiol. 81: 87-104, 2003
- 31) Collado, J. *et al. Kinetics of deactivation of Bacillus cereus spores* Food Microbiol. 20: 545-548, 2003
- 32) Zhao, L. *et al. Comparison of logistic regression and linear regression in modeling percentage data* Appl. Environ. Microbiol. 67: 2129-2135, 2001
- 33) Basti, A.A. & Razavilar, V. *Growth response and modeling of the effects of selected factors on the time-to-detection and probability of growth initiation of Salmonella typhimurium* Food Microbiol. 21: 431-438, 2003