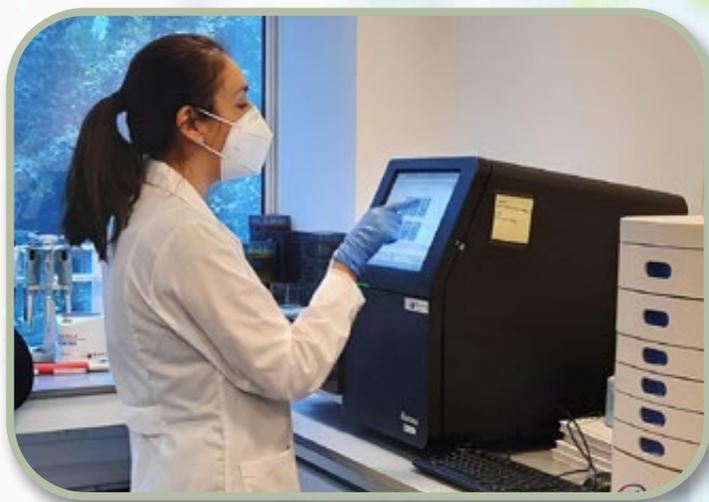


# Monitoreando la Inocuidad de los Alimentos

Metodologías Más Rápidas y Sensibles



La seguridad alimentaria y la producción responsable son dos de los 17 objetivos de Desarrollo Sostenible de las Naciones Unidas, debido al aumento progresivo de la población mundial, que para 2050 llegará a más de 9 mil millones de personas, lo que requerirá el doble de los alimentos producidos en la actualidad. Esta presión sobre la producción de alimentos, el aumento de la temperatura

global asociada al cambio climático y el mayor intercambio de productos alimenticios entre países, amenazan con aumentar las enfermedades transmitidas por alimentos, los que hoy, según datos de la OMS, enferman a unos 600 millones de personas al año y generan pérdidas de US\$ 110 mil millones en productividad y gastos médicos.

Resguardar la inocuidad alimentaria es una tarea compleja, que involucra combinar medidas e intervenciones a lo largo





El avance de la biología molecular y el desarrollo de nuevas técnicas y aplicaciones permiten la detección rápida, sensible y específica de patógenos, aumentando el espectro de identificación de cepas y de genes de resistencia a antibióticos u otras drogas.

de toda la cadena productiva, desde la pre cosecha hasta el envasado y traslado del producto final para detectar patógenos que puedan poner en riesgo la salud del consumidor. Su éxito radica en la rápida detección de focos de infección, permitiendo tomar decisiones y aplicar medidas que eviten la expansión y contaminación de alimentos en cualquiera de sus etapas.

Los métodos clásicos de diagnóstico y control de microorganismos involucran el cultivo y aislamiento de patógenos, largos períodos de incubación y complejos protocolos bioquímicos que derivan en entrega de resultados entre 48 a 72 horas, tiempo que llega a entre 7-15 días al analizar patógenos de crecimiento lento. Por otra parte, estas metodologías solo permiten identificar microorganismos cultivables y la información entregada normalmente llega hasta la identificación de género y especie.

Con el avance de la biología molecular estas limitaciones se han superado gracias al desarrollo de nuevas técnicas y aplicaciones que permiten la detección rápida, sensible y específica de patógenos transmitidos por los alimentos. Al

mismo tiempo, está aumentando el espectro de identificación de cepas y de variantes altamente peligrosas o que presentan riesgo para la salud humana y animal, así como aquellas portadoras de genes de resistencia a antibióticos u otras drogas de uso común.

En enero de este año, la FDA de Estados Unidos lanzó el programa Nueva Era de Seguridad Alimentaria Más Inteligente, que complementa la Ley de Modernización de la Seguridad Alimentaria (FSMA), incluyendo entre sus directrices el desarrollo e implementación de nuevas herramientas de trazabilidad de alimentos que aseguren su calidad.

Tres son las herramientas biotecnológicas que están cumpliendo de mejor manera este objetivo en la industria alimentaria, gracias a su capacidad de detectar virus, bacterias, hongos, parásitos y otros microorganismos.

### **PCR: detección y cuantificación de microorganismos y virus**

La PCR es una técnica de diagnóstico altamente específica y certera, capaz de entregar resultados en solo 2 a 4 ho-

ras, por lo que se ha convertido en una eficaz herramienta para el diagnóstico de patógenos transmitidos por alimentos, en diversas matrices de alimentos, como carnes, frutas o verduras a lo largo de toda la cadena de producción. Su eficacia y sensibilidad se basan en el reconocimiento de la secuencia genética específica del organismo o patógenos que se quiere detectar. Con ella es posible definir si se quiere identificar un grupo particular, género, especie o cepa de patógenos en muestras complejas, como productos fermentados, alimentos preparados y envasados.

Con la incorporación de la enzima retrotranscriptasa se ha ampliado el uso de la PCR a la detección de patógenos cuyo material genético es ARN, como es el caso de los virus, incluyendo hepatitis, rotavirus y norovirus, que son un gran problema en los alimentos manipulados por personas y cuyo análisis por técnicas clásicas requiere tiempos prolongados de incubación en células.

Otro avance de esta herramienta es la PCR en tiempo real o qPCR, que además de detectar microorganismos permite estimar la carga presente en la muestra. De ahí su utilidad para estimar el número de bacterias inoculadas en productos fermentados o la estimación del número de mesófilos (microorganismos que se desarrollan entre 20°C y 45°C) en una muestra. De esta forma es posible detectar si hay contaminación de la materia prima, deficiente manipulación durante el proceso de elaboración y alteración del producto.

Asimismo, con la incorporación de sondas Taqman es posible aumentar la especificidad de la reacción, evaluar varios patógenos simultáneamente y detectar pequeñas diferencias en un gen, lo que es particularmente útil para analizar virulencia o patogenicidad.

### LAMP: la alternativa portátil y de fácil interpretación en terreno

En la búsqueda de alternativas a la PCR que no requieran de equipamiento complejo y análisis que solo se pueden realizar en laboratorio, en los últimos años ha ganado terreno la técnica LAMP (*Loop-Mediated Isothermal Amplification*). Esta metodología no requiere de instalaciones ni personal altamente calificado para su aplicación e interpretación de los resultados, pues incorpora un tinte que permite identificar la presencia de un patógeno por el cambio de color de la reacción. A esto se suma la rápida entrega de resultados, lo que toma entre 30 a 40 minutos.

Su principio es parecido al de la PCR convencional, pero en lugar de reconocer una región del genoma del microorganismo trabaja sobre tres, lo que aumenta considerablemente su especificidad en la detección de patógenos, que con las metodologías clásicas muchas veces no es posible de identificar o el contenido de la muestra genera incertidumbre.

El test requiere incubaciones a 60-70°C, por lo que se puede realizar en



La PCR es una técnica de diagnóstico altamente específica y certera, capaz de entregar resultados en solo 2 a 4 horas, por lo que se ha convertido en una eficaz herramienta para el diagnóstico de patógenos transmitidos por alimentos

cualquier baño o incubadora de temperatura controlada, sin necesidad de un equipo especial para su ejecución. Esto permite además hacer los test en el lugar de muestreo, sin tener que trasladar la muestra a un punto de control, lo que facilita la toma de decisiones rápidas en caso de tener muestras contaminadas, sin afectar toda la cadena de producción.

### NGS: múltiples microorganismos a la vez

A diferencia de la PCR o el LAMP, la secuenciación masiva de próxima generación o NGS (*Next Generation Sequencing*) no solo identifica un microorganismo presente en la línea de producción, sino que a través de análisis bioinformático es posible detectar particularidades de variedades, cepas, presencia de genes de resistencia a antibióticos, mutaciones en el genoma, virulencia y patogenicidad, que son variables importantes para identificar patógenos difíciles de controlar y que no es posible detectar con otras metodologías.

Además, mediante la aplicación de análisis de metagenoma permite iden-

tificar múltiples (sino todos) los microorganismos de una muestra a partir de un solo análisis, sin la limitante de conocer previamente el tipo o grupo de patógenos a detectar. Su empleo implica tiempos de respuesta de alrededor de dos semanas para cientos de muestras en simultáneo, por lo que es una metodología que en la industria alimentaria es más útil para la búsqueda de patógenos no descritos previamente o que no han sido detectado por otras técnicas. A esto se suma el poder establecer cambios en las dinámicas microbiológicas en productos fermentados que pudieran estar afectando la calidad y seguridad del producto final.

Si bien en sus inicios esta técnica era extremadamente cara para su aplicación rutinaria, sus costos están cayendo rápidamente, a la par con la constante mejora en la calidad de la información obtenida, por lo que ha ganado terreno en los análisis masivos de múltiples matrices alimentarias, lo que podría en un futuro cercano reemplazar a las técnicas de PCR y qPCR. 

Melissa Soto M.Sc.  
Ingeniero en Biotecnología  
Líder de Proyectos  
Área Biotecnología Ambiental  
Centro de Biotecnología - Fraunhofer Chile  
contacto@fraunhofer.cl