

RESUMEN

La seguridad alimentaria es una prioridad para la población y en la actualidad cobra mayor importancia por ciertas tendencias alimentarias como el consumo de alimentos crudos y la distribución generalizada de alimentos orgánicos, que pueden ser la causa de enfermedades transmitidas por alimentos.

Para garantizar la seguridad alimentaria, la detección de estos microorganismos debe realizarse de manera rápida y eficiente. Por eso, el método de cultivo microbiológico se considera el oficial para la detección de estos patógenos. Sin embargo, adolece de importantes inconvenientes, ya que no solo requiere mucho tiempo, sino que también es laborioso y consume muchos recursos. Además, puede ser limitado con respecto a la detección de bacterias fisiológicamente alteradas y/o estresadas durante el almacenamiento y la conservación.

En este trabajo se ha desarrollado un protocolo sencillo y rápido para la detección simultánea de *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* y *S. enterica* en alimentos, mediante la combinación de una etapa de co-cultivo en medio líquido y la detección por PCR múltiple.

Se ha evaluado la eficiencia de varios medios de enriquecimiento y se seleccionó el agua de peptona tamponada como el medio óptimo para el co-cultivo de las cuatro bacterias diana. También se optimizaron las condiciones de PCR múltiple y se aplicaron tanto a co-cultivos como a muestras de alimentos inoculados artificialmente, lechuga orgánica y carne picada.

Después de la optimización, la PCR múltiple desarrollada fue capaz de detectar las cuatro bacterias simultáneamente, hasta con una inoculación inicial de 10^0 UFC/mL. En presencia de ambas matrices alimentarias inoculadas, tras la etapa de co-cultivo, la PCR múltiple pudo detectar simultáneamente las 3 bacterias *E. coli*, *S. enterica* y *L. monocytogenes*, mientras que *S. aureus* se ha detectado por PCR simple, a partir del mismo extracto de ADN del co-cultivo.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el uso de un paso de co-cultivo en Agua peptona tamponada, antes de la detección por PCR simple y múltiple, puede facilitar la detección simultánea de las cuatro bacterias potencialmente presentes en las matrices alimentarias. La presencia o ausencia de la bacteria diana en los alimentos se confirma en unas 30 horas, lo que reduce el tiempo requerido para la detección en comparación con el tiempo mínimo de 7 días por método cultural. Asimismo, permite reducir el número de medios de cultivo y reactivos, para el aislamiento e identificación de bacterias que no son detectadas por PCR y que no están presentes en las matrices alimentarias, lo que supone un importante ahorro económico.