



Cornell University

# Manual de monitoreo ambiental

para las industrias de  
alimentos y bebidas

1a Edición



El Manual de monitoreo ambiental de 3M tiene por único objeto proporcionar una orientación general. La información técnica, las recomendaciones y otras declaraciones contenidas en este documento se basan en la experiencia y la información que 3M considera fiable, pero no se garantiza la exactitud o integridad de dicha información. Esa información está destinada a personas con conocimientos y aptitudes técnicas suficientes para evaluar y aplicar su propio juicio fundamentado en la información, teniendo en cuenta la naturaleza de sus actividades, las políticas vigentes y las leyes y reglamentos particulares que puedan aplicarse.

## ÍNDICE

# Manual de monitoreo ambiental para las industrias de alimentos y bebidas

Términos y definiciones clave iii



## CAPÍTULO 1

La importancia del muestreo ambiental en los programas de inocuidad y calidad de los alimentos 1

**Martin Wiedmann** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell

**Alexandra Belias** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell

**Genevieve Sullivan** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell

**John David** | 3M Food Safety



## CAPÍTULO 2

Monitoreo de la higiene con base en ATP y proteínas 11

**Louise Roberts** | Alimenti Food Sciences Ltd

**Gareth Lang** | 3M Food Safety

**Burcu Yordem** | 3M Food Safety



## CAPÍTULO 3

Monitoreo ambiental de microorganismos indicadores 29

**Kelly Stevens** | General Mills

**Jean-Francois David** | 3M Food Safety

**Cari Lingle** | 3M Food Safety



## CAPÍTULO 4

Monitoreo ambiental de patógenos 41

**Martin Wiedmann** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell

**Alexandra Belias** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell

**Genevieve Sullivan** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell

**Christian Blyth** | 3M Food Safety

## ÍNDICE (Cont.)



## CAPÍTULO 5

**Monitoreo ambiental de microorganismos deterioradores**

59

**Randy Worobo** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell**Abigail Snyder** | Departamento de Ciencia y Tecnología de la Alimentación de la Universidad Estatal de Ohio**Cari Lingle** | 3M Food Safety

## CAPÍTULO 6

**Monitoreo ambiental de alérgenos**

73

**Thomas Grace** | Bia Diagnostics**Ken Davenport** | 3M Food Safety**Gabriela López Velasco** | 3M Food Safety

## CAPÍTULO 7

**Cómo impulsar un cambio significativo en su organización a través de la cultura y el monitoreo ambiental**

85

**John Butts** | Food Safety By Design**Lone Jespersen** | Cultivate**Michele Fontanot** | 3M Food Safety

## CAPÍTULO 8

**Guía de muestreo ambiental**

95

**Scott Egan** | 3M Food Safety**Burcu Yordem** | 3M Food Safety**Nuestros colaboradores**

107

# Términos y definiciones clave

Término	Definición
Adenosin trifosfato (ATP)	Molécula de energía presente en cada célula, viva o muerta.
Muestreo agresivo <sup>1</sup>	Aumento de la frecuencia y/o el alcance de la toma de muestras en respuesta a un resultado de muestra positivo. También puede incluir la adición de un muestreo posterior al enjuague y otros métodos avanzados de toma de muestras.
Biopelícula	Película delgada y viscosa llena de bacterias que se adhiere a una superficie. Las biopelículas pueden formarse en superficies rugosas o rayadas y en zonas de difícil acceso, lo que complica su eliminación. Las biopelículas pueden convertirse en un refugio persistente para los microorganismos y una fuente de contaminación de los productos alimenticios, ya que pueden contener microorganismos deterioradores o patógenos.
Microbiota	Población de microorganismos que se encuentran en un entorno específico.
Limpieza fuera del sitio (COP, Clean out-of-Place)	Método de limpieza de los elementos de un equipo, los cuales se retiran de su zona de operaciones y se llevan a una estación designada para su desmontaje y limpieza.
Limpieza en el sitio (CIP, Clean-in-Place)	Método de limpieza de las superficies interiores de los equipos, tuberías, recipientes, filtros y accesorios asociados de un proceso sin desmontar.
Corrección <sup>2,3</sup>	Acción para eliminar una falta de conformidad detectada. Pueden ser actividades inmediatas para identificar y corregir un problema que se produjo durante la elaboración de alimentos, como volver a limpiar y descontaminar una línea antes de iniciar la producción cuando quedan residuos de alimentos después de la limpieza. Esto no debe confundirse con la medida correctiva, ya que puede que no se dirija a la causa del problema.
Medida correctiva <sup>2,3</sup>	Acción para eliminar la causa de una posible no conformidad o prevenir la ocurrencia de otra situación no deseada. No debe confundirse con la corrección, que quizás no aborde la causa, ni con la medida preventiva, que se toma para evitar la aparición de un posible problema.
Acción correctiva y preventiva (CAPA, Corrective and Preventive Action) <sup>4</sup>	Concepto de gestión de calidad que se encuentra en las normas GMP, HACCP e ISO y que tiene como objetivo rectificar una tarea, un proceso, un producto o un comportamiento que ha ocasionado errores o desviaciones del plan previsto. La CAPA se divide en dos funciones distintas -medidas correctivas y medidas preventivas- para investigar sistemáticamente la causa de los problemas identificados y evitar su repetición o aparición, respectivamente.
Punto crítico de control (PCC) <sup>2,5</sup>	Punto, paso o procedimiento de un proceso alimentario en el que se puede aplicar un control y que es esencial para prevenir o eliminar un peligro para la inocuidad alimentaria o reducir el peligro a un nivel aceptable.
Límite crítico <sup>5</sup>	Valor máximo y/o mínimo al que debe controlarse un parámetro biológico, químico o físico en un PCC para prevenir, eliminar o reducir a un nivel aceptable la aparición de un peligro para la inocuidad alimentaria.

Término	Definición
Programa de monitoreo ambiental (EMP, Environmental Monitoring Program)	Programa definido para supervisar el ambiente de una planta de fabricación de alimentos para prevenir la contaminación cruzada del producto terminado con el ambiente. El término EMP se suele utilizar para describir un programa que verifica la limpieza, la desinfección y otros programas de control de patógenos ambientales y, normalmente, un EMP incluye los puntos de muestreo, la frecuencia, la metodología de prueba, los criterios de aceptación y las acciones correctivas. En términos más generales, los programas de monitoreo ambiental suelen abarcar una serie de pruebas -desde el ATP, microorganismos indicadores hasta los patógenos, microorganismos deterioradores alérgenos- y pueden servir para validar o verificar programas de prerrequisitos específicos (por ejemplo, saneamiento y diseño sanitario de equipos) o pueden considerarse mayormente como una estrategia para monitorear el medio ambiente en busca de condiciones antihigiénicas que puedan causar problemas de inocuidad y/o calidad de los alimentos.
Zonas de muestreo de monitoreo ambiental <sup>1,6,7,8,9</sup>	Los programas de muestreo ambiental utilizan una clasificación por zonas para identificar el nivel de riesgo de las áreas o sitios donde el producto puede estar expuesto a la contaminación ambiental luego de un proceso letal microbiano. En la mayoría de los países y regiones, los puntos de muestreo en las plantas de procesamiento se asignan a una de cuatro zonas: (i) La Zona 1 es el área de mayor riesgo que consiste en superficies expuestas de contacto con los alimentos; (ii) La Zona 2 contiene superficies de no contacto con los alimentos en estrecha proximidad a los alimentos y superficies de contacto con los alimentos, (iii) La Zona 3 contiene superficies de no contacto con los alimentos, más alejadas, ubicadas en el área de procesamiento o cerca de ella; (iv) La Zona 4 incluye superficies de no contacto con los alimentos fuera de las áreas de procesamiento. En algunos países, los puntos de muestreo pueden clasificarse en tres zonas, que suelen combinar las Zonas 2 y 3 en una sola.
Apagafuegos	Enfoque (a menudo infructuoso) en el cual se intenta repetidamente la misma solución para un problema recurrente en un esfuerzo por lograr el control microbiológico.
Con causa justificada <sup>1</sup>	Muestreo de investigación que sigue a una muestra positiva de un producto, superficie de contacto u otro lugar de verificación.
Buenas prácticas de manufactura (GMP, Good Manufacturing Practices)	Condiciones y prácticas para la elaboración de alimentos inocuos en condiciones sanitarias, incluido el personal, la planta y los terrenos, las operaciones sanitarias, las instalaciones y los controles sanitarios, los equipos y los utensilios, los procesos y los controles, el almacenamiento y la distribución, y las consideraciones sobre los niveles de acción de los defectos.
Nicho de crecimiento <sup>1</sup>	Lugar que favorece el crecimiento microbiológico y está protegido del proceso de saneamiento; se caracteriza por un alto recuento microbiano después de la limpieza y el saneamiento.
Sitio de refugio <sup>1</sup>	Nicho de crecimiento que contiene el patógeno o su indicador.
Peligro <sup>2,5</sup>	Cualquier agente biológico, químico (incluido radiológico) o físico que tenga el potencial de causar enfermedades o daño. Los peligros pueden introducirse en los alimentos o estar presentes en ellos de manera natural.

Término	Definición
Análisis de peligros y puntos de control críticos (HACCP, Hazard Analysis and Critical Control Points) <sup>6</sup>	Estrategia de inocuidad alimentaria preventiva que consiste en un enfoque sistemático para la identificación y evaluación del nivel de riesgo de los peligros de un determinado alimento, proceso o una práctica de producción de alimentos y el control de tales peligros que tienen una probabilidad razonable de ocurrir.
Barrera	Métodos, procesos, conservadores y tecnologías que se utilizan en combinación para asegurarse de que los patógenos de los productos alimenticios sean eliminados o controlados adecuadamente.
Identificación de zonas higiénicas	División de una planta de fabricación de alimentos en diferentes áreas para evitar los riesgos de contaminación de los alimentos. Las áreas se designan en función del riesgo y pueden incluir áreas donde no hay producción (por ejemplo, oficinas), áreas básicas de GMP (por ejemplo, almacenamiento de materias primas) y el área primordial de control de patógenos (PPCA), donde el producto RTE elaborado se expone al medio ambiente antes de su envasado. Las zonas higiénicas no deben confundirse con las zonas de muestreo de monitoreo ambiental, que se utilizan para designar las áreas objetivo para el muestreo ambiental (es decir, las Zonas 1-4).
Microorganismo índice	Organismo o grupo de organismos cuya presencia está relacionada con la posible aparición de patógenos ecológicamente similares (por ejemplo, <i>Listeria</i> spp.).
Microorganismo indicador	Organismo o grupo de organismos cuya presencia refleja la condición microbiológica general de los alimentos o el medio ambiente (por ejemplo, coliformes, <i>Enterobacteriaceae</i> ).
Intervención <sup>1</sup>	Procedimiento con la capacidad de eliminar el patógeno de la zona afectada (por ejemplo, tratamiento térmico, desmontaje completo seguido de limpieza y saneamiento).
Programa de intervención y control de <i>Listeria</i> <sup>1</sup>	Programa de cumplimiento normativo documentado, diseñado para satisfacer las necesidades regulatorias del establecimiento. El programa de intervención y control de <i>Listeria</i> define claramente: (i) las medidas tomadas para verificar la efectividad del control del medio ambiente por parte del establecimiento y (ii) las medidas tomadas cuando una muestra del producto, la superficie de contacto o el lugar de verificación da positivo para <i>Listeria monocytogenes</i> o <i>Listeria</i> spp.
Programa de monitoreo ambiental de patógenos (PEM, Pathogen Environmental Monitoring)	Programa definido para supervisar el ambiente de una planta de fabricación de alimentos en busca de microorganismos patógenos. El objetivo de un programa PEM es encontrar y eliminar la contaminación por patógenos en el ambiente de procesamiento. Normalmente, se utilizan para: (1) verificar un sistema general de inocuidad alimentaria (o componentes específicos de un sistema de inocuidad alimentaria) y (2) proporcionar una indicación temprana de los posibles peligros para la inocuidad alimentaria.

Término	Definición
Limpieza y saneamiento profundos y periódicos <sup>1</sup>	Desmontaje de los equipos u otros componentes de una planta de procesamiento más allá del nivel normal, seguido de la limpieza y el saneamiento.
Muestreo posterior al enjuague <sup>1</sup>	Muestras que se toman después de la producción, el desmontaje y el enjuague inicial, pero antes de la aplicación de solución de limpieza o desinfectante. Los sitios típicos se encuentran debajo de la línea de productos y en zonas que suelen recibir salpicaduras del proceso de enjuague (por ejemplo, los costados de las máquinas, las patas, la estructura de soporte, la unión entre las paredes con el piso). Las muestras posteriores al enjuague son un buen indicador general de la presencia del microorganismo en el área de producto expuesta luego del proceso letal. La detección del organismo no significa que haya un sitio de refugio dentro del alcance del área muestreada. Las muestras positivas posteriores al enjuague normalmente desencadenan un muestreo agresivo.
Muestreo preoperatorio	Muestras que se toman después del saneamiento pero antes de iniciar la producción, normalmente durante o después del montaje y la puesta en marcha.
Acción preventiva <sup>3</sup>	Acción para eliminar la causa de una posible no conformidad o prevenir la ocurrencia de otra situación no deseada.
Controles preventivos (PC, Preventive Control) <sup>2</sup>	Medidas de control proactivas, cuyo diseño y ejecución tienen por objeto reducir o eliminar los peligros de inocuidad alimentaria. Entre estos se incluyen los procedimientos razonablemente apropiados y basados en riesgos, las prácticas y procedimientos que una persona con conocimientos sobre la fabricación, el procesamiento, el envasado o la conservación de los alimentos emplearía para reducir de forma significativa o prevenir la ocurrencia de peligros identificados en el análisis de peligros y que sean coherentes con los conocimientos científicos actuales sobre la fabricación, el procesamiento, el envasado o la conservación de los alimentos en el momento del análisis.
Área primordial de control de patógenos (PPCA, Primary Pathogen Control Area)	Zona de higiene designada. El PPCA es un área donde el producto está expuesto al ambiente de proceso en una fase post-letal. También se conoce como zona lista para el consumo (RTE, ready-to-eat), zona de alto riesgo o zona de alta higiene.
Prueba cualitativa	Prueba que determina la presencia o ausencia de uno o más analitos en una muestra.
Prueba cuantitativa	Prueba que mide el nivel o la concentración de uno o más analitos en una muestra.
Unidades relativas de Luz (RLU, Relative Light Unit)	Lectura de la cantidad de luz determinada por un sistema individual de control de higiene basado en ATP. Los fabricantes de sistemas ATP pueden tener diferentes valores para una unidad de luz y todas las mediciones se efectúan en relación con ese valor.



Término	Definición
Programa de control del proceso de saneamiento <sup>1</sup>	Proceso general con el objetivo de gestionar el monitoreo ambiental; incluye tanto componentes de inocuidad alimentaria como componentes de calidad no regulados por autoridades. Los componentes reglamentarios incluyen HACCP, SSOP, programas de prerrequisitos y programas de control de patógenos. El muestreo de investigación "con causa justificada" es parte del programa de control de patógenos. El muestreo "sin causa justificada" es parte del programa de control del proceso de saneamiento, pero no es necesariamente un componente del programa de cumplimiento normativo.
Procedimientos operativos estándar de saneamiento (SSOP, Sanitation Standard Operating Procedures)	Procedimientos escritos que una planta de fabricación de alimentos desarrolla e implementa para asegurar las condiciones sanitarias y prevenir la contaminación directa o la adulteración de los productos alimenticios. Estos incluyen los pasos escritos para la limpieza y el saneamiento, y se consideran como uno de los programas de prerrequisitos de HACCP.
Proceso de "búsqueda y destrucción" <sup>1</sup>	<p>Enfoque sistemático multifacético para encontrar sitios de microorganismos persistentes (nichos) en las plantas de elaboración de alimentos, con el objetivo de erradicar o mitigar los efectos de tales microorganismos. Este proceso se ha utilizado con eficacia para abordar la contaminación persistente por <i>Listeria monocytogenes</i> en las plantas de elaboración de alimentos. El uso continuo de esta estrategia de base científica no solo puede controlar los patógenos ambientales, sino que también puede utilizarse para controlar la descomposición microbiana en los alimentos listos para el consumo (RTE).</p> <p>El proceso de "búsqueda y destrucción" puede ayudar a:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● encontrar nichos de crecimiento de patógenos</li> <li>● encontrar posibles nichos de crecimiento que requieran monitoreo y control</li> <li>● definir el nivel normal de desmontaje</li> <li>● definir el nivel de profundidad periódica del desmontaje</li> <li>● definir la frecuencia del nivel de profundidad periódica del desmontaje</li> <li>● calificar una nueva pieza de equipo (por ejemplo, hacer funcionar durante 90 días y luego llevar a cabo una investigación de "búsqueda y destrucción")</li> <li>● validar la efectividad del protocolo de limpieza del equipo</li> <li>● validar la efectividad de la intervención aplicada a un equipo (por ejemplo, el tratamiento térmico u otro método)</li> </ul>
Tiempo-Acción-Concentración-Temperatura (TACT, Time-Action-Concentration-Temperature)	Enfoque para evaluar la causa de raíz de una falla de un proceso de limpieza mediante la examinación del tiempo, la acción mecánica, la concentración de los productos químicos y/o la temperatura del proceso de intervención.

Término	Definición
Ruta de transferencia <sup>1</sup>	Trayectoria que un organismo recorre para desplazarse desde un punto de transferencia a otro (por ejemplo, la trayectoria entre el sitio de refugio y una superficie de contacto o producto); esto refleja normalmente la transferencia de un patógeno por parte de objetos o personas. El agua, empleados, equipos, productos, materiales y aerosoles son vectores de transferencia comunes.
Punto de transferencia <sup>1</sup>	Superficies que están expuestas a limpieza y saneamiento y pueden servir como puntos de contacto que facilitan la transferencia de un microorganismo de una superficie a otra, por ejemplo, las manos enguantadas. Los puntos de transferencia no deben ser nichos de crecimiento cuando se utilizan procedimientos eficaces de limpieza y saneamiento.
Validación <sup>5</sup>	Aportar evidencia científica de que una estrategia controla un peligro determinado. El monitoreo ambiental es una estrategia clave que puede utilizarse para validar los procedimientos de limpieza y saneamiento. Esto suele implicar la realización de pruebas con el equipo, utilizando un enfoque de "búsqueda y destrucción" después de que se haya realizado la limpieza y el saneamiento, incluido el desmontaje completo del equipo y la recolección de muestras en el equipo desmontado para validar que los procedimientos utilizados limpian y desinfectan completamente una pieza del equipo.
Hisopado de vectores	Hisopados de investigación adicionales que se realizan en todas direcciones, incluso de arriba abajo si es posible, en el lugar de una detección positiva inicial.
Programa de monitoreo de verificación <sup>1</sup>	Programa de rutina para verificar la aplicación consistente del programa de control del proceso de saneamiento; incluye el muestreo ambiental de las Zonas 1, 2 y 3 en el área lista para el consumo (RTE). Este programa se utiliza para el cumplimiento normativo y forma parte del programa HACCP o SSOP de un establecimiento.
Sitios de verificación, superficie de contacto (Zona 1) <sup>1</sup>	Las pruebas de los sitios de la Zona 1 (superficie de contacto con los alimentos) suelen ser la medida de verificación primordial de aplicación consistente del programa de control ambiental de patógenos para prevenir la contaminación del producto. En la fabricación de productos de alto riesgo, estos sitios se deben evaluar semanalmente; las líneas de menor riesgo se pueden evaluar con menor frecuencia, siempre que el proceso esté bajo control.
Sitios de verificación (Zonas 2 y 3) <sup>1</sup>	Lugares muestreados durante las operaciones para detectar la presencia del microorganismo en el entorno operativo normal. Los sitios de verificación son superficies que están expuestas durante las condiciones normales de operación y que probablemente sirvan como puntos de transferencia (es decir, se encuentran en las vías de transferencia). Mediante el monitoreo de los sitios de verificación se detecta el organismo cuando este se traslada desde su lugar de refugio a una superficie de contacto o al producto.

Término	Definición
Zona 1 <sup>1,6,7,8,9</sup>	Superficies de contacto directo con los alimentos después de un proceso letal, por ejemplo, rebanadoras, peladoras, rellenadores, tolvas, cribas, bandas transportadoras, sopladores de aire, manos de los empleados, cuchillos, estantes, mesas de trabajo.
Zona 2 <sup>1,6,7,8,9</sup>	Superficies de no contacto con los alimentos en estrecha proximidad a los alimentos y superficies de contacto con los alimentos, por ejemplo, el exterior y la estructura de los equipos de procesamiento, las unidades de refrigeración, los paneles de control de los equipos, los interruptores.
Zona 3 <sup>1,6,7,8,9</sup>	Superficies de no contacto con los alimentos, más alejadas, situadas en la zona de procesamiento o cerca de ella, por ejemplo, montacargas, carretillas de mano, carros, ruedas, cubiertas de retorno de aire, mangueras, paredes, suelos, desagües.
Zona 4 <sup>1,6,7,8,9</sup>	Superficies de no contacto con los alimentos fuera de las áreas de procesamiento, por ejemplo, vestidores, cafeterías, vías de entrada/acceso, muelles de carga, áreas de almacenamiento de productos terminados, áreas de mantenimiento.

## Referencias:

1. Malley, T.J., Butts, J., Wiedmann, M. 2015. Seek and destroy process: *Listeria monocytogenes* process controls in the ready-to-eat meat and poultry industry. J. Food Prot. 78 (2): 436-445. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-507>
2. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2015. Current Good Manufacturing Practice, Hazard Analysis, and Risk-Based Preventive Controls for Human Food; Final Rule. Verification of implementation and effectiveness. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FSMA/ucm334115.htm>
3. Organización Internacional para la Normalización. 2015. ISO 900:2015. Quality management systems – Fundamentals and vocabulary .
4. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2018. Quality System Regulation. Subpart J – Corrective and Preventive Action . 21 CFR §820.100. <https://www.ecfr.gov>
5. Comisión del Codex Alimentarius. 2003. General Principles of Food Hygiene. CAC/RCP 1-1969. <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/all-standards/en/>
6. Dairy Food Safety Victoria. 2016. Dairy Pathogen Manual. <http://www.dairysafe.vic.gov.au/publications-media/regulations-and-resources/guidelines>
7. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2017. Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods: Guidance for Industry; Draft Guidance. <https://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm073110.htm>
8. United Fresh Produce Association. 2013. Guidance on Environmental Monitoring and Control of *Listeria* for the Fresh Produce Industry. <http://www2.unitedfresh.org/forms/store/ProductFormPublic/guidance-on-environmental-monitoring-and-control-of-listeria-for-the-fresh-produce-industry>
9. Simmons, C.K., Wiedmann, M. 2018. Identification and classification of sampling sites for pathogen environmental monitoring programs for *Listeria monocytogenes*: Results from an expert elicitation. Food Microbiol. 75: 2-17. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.07.005>

## CAPÍTULO 1



# La importancia del muestreo ambiental en los programas de inocuidad y calidad de los alimentos

Por

**Martin Wiedmann** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell

**Alexandra Belias** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell

**Genevieve Sullivan** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell

**John David** | 3M Food Safety

- |      |   |   |
|------|---|---|
| 1.1. | Reconocimiento creciente del ambiente de procesamiento de alimentos como fuente de contaminación          | 2 |
| 1.2. | Importancia de identificar los propósitos y objetivos específicos de los programas de monitoreo ambiental | 5 |
| 1.3. | Analitos objetivo para programas de monitoreo ambiental   | 7 |
| 1.4. | Importancia de la coordinación e integración de los programas de monitoreo ambiental                      | 7 |
| 1.5. | Necesidades de las empresas para los programas de monitoreo ambiental                                     | 8 |

## 1.1. Reconocimiento creciente del ambiente de procesamiento de alimentos como fuente de contaminación

Existe un creciente reconocimiento de que los ambientes de las plantas de procesamiento de alimentos, así como otros entornos construidos que se utilizan en la producción y distribución de alimentos (por ejemplo, los espacios de manipulación de alimentos al por menor, los restaurantes o las plantas de envasado de productos) pueden ser fuentes importantes de agentes biológicos, compuestos químicos y peligros físicos que pueden afectar negativamente a la inocuidad y calidad de los alimentos.

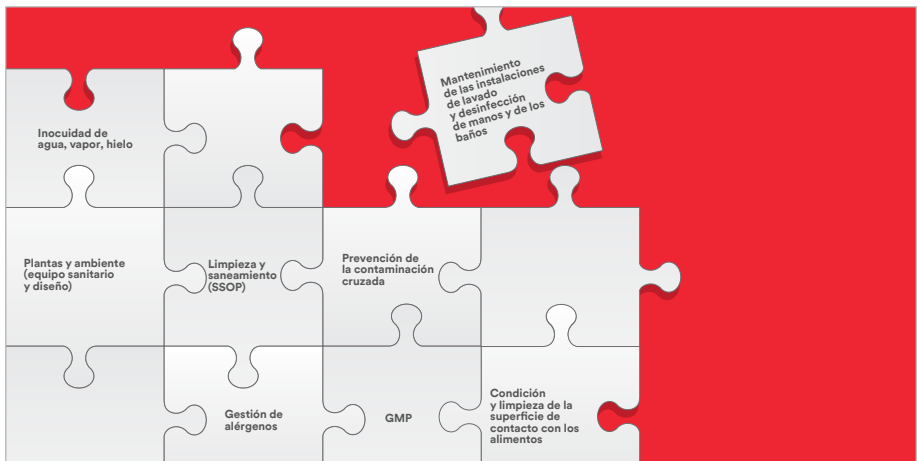
Los sistemas clásicos de inocuidad y calidad de los alimentos se basaban en gran medida en el concepto de Análisis de peligros y puntos de control críticos (HACCP, Hazard Analysis and Critical Control Points) para garantizar la inocuidad y la calidad de los alimentos, haciendo hincapié en la identificación de un punto de control crítico (PCC) específico para cada peligro identificado como probabilidad razonable de que ocurra. Se tendrían que establecer los parámetros específicos que permitirían un control eficaz del peligro

objetivo en el PCC ("validación") y luego se tendrían que monitorear continuamente ("verificación"). El ejemplo por excelencia de un PCC sería un tratamiento térmico que cumpliera un determinado requisito mínimo de temperatura y tiempo, como la pasteurización de la leche.

Sin embargo, el HACCP, así como los sistemas de gestión de la calidad que utilizan conceptos similares, requieren que se establezcan los denominados "programas de prerrequisitos" para garantizar el funcionamiento eficaz de los programas de inocuidad de los alimentos basados en el HACCP y los programas similares de calidad de los alimentos.

Entre los ejemplos de programas de prerrequisitos más comunes se incluyen el control de plagas, los procedimientos operativos estándar de saneamiento (SSOP, Sanitation Standard Operating Procedures), la higiene personal y las buenas prácticas de manufactura (GMP) (Figura 1).

**Figura 1.** HACCP y programas de prerrequisitos seleccionados que se pueden validar y verificar mediante el monitoreo ambiental





A pesar del valor de los sistemas de inocuidad alimentaria basados en el enfoque HACCP y de los sistemas de calidad de los alimentos de estructura similar, ha quedado claro que un gran número de problemas de inocuidad y calidad de los alimentos que suceden en todo el mundo se deben a fallas y problemas con los programas de prerrequisitos.

Esto incluye la falta de validación y verificación de los programas de prerrequisitos, en particular el saneamiento (incluido el equipo sanitario y el diseño de las plantas), y las GMP (incluida la identificación de zonas higiénicas).

Entre los ejemplos de problemas de inocuidad y calidad de los alimentos causados por fallas en los programas de prerrequisitos figuran los brotes de listeriosis relacionados con los alimentos listos para el consumo (RTE, ready-to-eat), en los que la contaminación podría rastrearse hasta lugares del ambiente de la planta de elaboración. Esto ocurre en nichos de crecimiento en los que la *Listeria monocytogenes* podría sobrevivir en el tiempo y contaminar el producto terminado. También se han observado problemas similares en el caso de la *Salmonella*.

A menudo, los problemas de descomposición microbiana en los alimentos y bebidas RTE también se pueden rastrear hasta fuentes en los entornos de la planta de procesamiento que no se controlaron eficazmente mediante el saneamiento y las prácticas GMP. Entre los ejemplos de microorganismos deterioradores que suelen encontrarse en las plantas de procesamiento se encuentran *Pseudomonas* spp. y las bacterias ácido lácticas, así como hongos y levaduras.

Del mismo modo, los problemas de contaminación por alérgenos y los retiros de productos a veces pueden rastrearse hasta fallas en los programas de prerrequisitos.

## Ejemplos de eventos de persistencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* responsables de brotes

En los Estados Unidos, los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, Centers for Disease Control and Prevention) y los departamentos de salud a nivel estatal monitorean continuamente el número de casos de enfermedades transmitidas por los alimentos. Cuando hay un incremento en el número de casos a raíz de un patógeno determinado, esto puede ser un indicio de que se está produciendo un brote.

Por ejemplo, en octubre de 1998 se produjo un aumento repentino del número de casos de listeriosis en Nueva York, lo que indicaba un posible brote. En respuesta, los casos aislados de *Listeria monocytogenes* recogidos de estos casos clínicos, así como los casos en otros estados, se caracterizaron por la subtipificación para determinar si sus "huellas" coincidían. Un solo subtipo era común entre varios casos de ese mes de octubre, así como algunos casos aislados de meses anteriores que inicialmente se consideraron casos esporádicos. A continuación se realizaron entrevistas con los pacientes para determinar si había algún alimento común que hubiesen consumido entre todos.

Los resultados mostraron que el 89% de los pacientes infectados con la cepa del brote habían consumido salchichas cocidas y solo el 32% de los participantes no infectados con la cepa del brote habían consumido salchichas cocidas. De los pacientes infectados con la cepa del brote, el 78% informó de que había consumido una sola marca de salchichas.<sup>1</sup>

(cont.)



A partir de ahí, se realizaron pruebas de *Listeria monocytogenes* en las salchichas de la marca identificada. Los subtipos de los casos aislados del producto terminado coincidieron con los casos aislados de los casos clínicos, lo que implicaba a esta empresa con el brote.

Al final del brote, había 108 casos de listeriosis y 14 muertes asociadas. A pesar de que la compañía tenía un plan de HACCP apropiado, seguían elaborando un producto no inocuo. Posteriormente, se determinó que la contaminación por *Listeria monocytogenes* se había originado en el ambiente de la planta de procesamiento. Este caso ilustra la necesidad de programas eficaces de monitoreo ambiental (incluidas las medidas correctivas y preventivas correspondientes), incluso en plantas que cuentan con planes HACCP.

De manera similar, se rastreó el origen de un brote de *Salmonella* Agona hasta un cereal de avena tostada en 1998, que causó 209 casos de salmonelosis.<sup>2</sup> Se determinó que la *Salmonella* provenía del ambiente de la planta de procesamiento. Luego, 10 años más tarde, en 2008, se rastreó el origen de otro brote de *Salmonella* Agona hasta un cereal de arroz inflado, que causó 28 casos de salmonelosis. Se determinó que las cepas implicadas en ambos brotes eran del mismo subtipo, lo que indicaba que la *Salmonella* había sobrevivido en la planta durante una década. Este caso ilustra que los programas eficaces de monitoreo ambiental no solo son necesarios para *Listeria monocytogenes*, sino que también son esenciales para la *Salmonella*, especialmente en plantas que elaboran productos RTE de baja actividad de agua.

A medida que aumenta el reconocimiento del vínculo de las plantas de procesamiento con las fuentes de los problemas de inocuidad y calidad de los alimentos, la industria alimentaria y sus reguladores están poniendo más énfasis en los programas de monitoreo ambiental, lo que puede apuntar al análisis real de la inquietud (por ejemplo, patógenos, alérgenos, microorganismos deterioradores) o indicadores. Los indicadores incluyen cualquier organismo o compuesto cuya presencia (o su detección por encima de un determinado umbral) puede aportar evidencia de condiciones antihigiénicas o aumentar de otro modo el riesgo de problemas de inocuidad o descomposición de los alimentos. En teoría, el monitoreo ambiental puede servir para validar o verificar programas de prerequisites específicos (por ejemplo, saneamiento y diseño sanitario de equipos) o puede considerarse más generalmente como una estrategia para monitorear el medio ambiente en busca de condiciones antihigiénicas.

La creciente importancia de los programas de monitoreo ambiental queda particularmente bien ilustrada por los recientes cambios en los enfoques normativos de la inocuidad alimentaria. La Ley de Modernización de Inocuidad Alimentaria (FSMA, Food Safety Modernization Act) de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, Food and Drug Administration) de los Estados Unidos y regulaciones similares en otros países han elevado la importancia de los programas de prerequisites. Por ejemplo, en la Regla de Buenas Prácticas de Manufactura, Análisis de Peligros y Controles Preventivos Basados en el Riesgo para la Alimentación Humana (Regla PC) de la FSMA, muchos de los "controles preventivos" especificados representan programas que anteriormente se habrían clasificado como programas de prerequisites. Sin embargo, los controles preventivos de FSMA incluyen un requisito para la verificación de los controles preventivos, como no existía para los programas de prerequisites.

Además, la Regla PC de la FSMA incluye un reconocimiento específico del monitoreo ambiental como estrategia de verificación clave para ciertos controles preventivos no relacionados con el proceso, como el saneamiento: "Monitoreo ambiental, en



busca de un patógeno ambiental o de un organismo indicador apropiado, si la contaminación de un alimento listo para el consumo con un patógeno ambiental constituye un peligro que requiere un control preventivo, mediante la recolección y el análisis de muestras ambientales".<sup>3</sup>

Esta disposición demuestra el creciente consenso sobre la importancia de los programas de monitoreo ambiental como parte esencial de los sistemas de inocuidad y calidad de los alimentos.

## 1.2. Importancia de identificar los propósitos y objetivos específicos de los programas de monitoreo ambiental

Los programas de monitoreo del ambiente y las actividades de muestreo ambiental pueden servir para múltiples propósitos que, a veces, resultan ser complementarios. En la práctica, los programas de monitoreo ambiental suelen abarcar una serie de pruebas -desde el ATP y microorganismos indicadores, hasta patógenos, microorganismos deterioradores y alérgenos- que se llevan a cabo con una variedad de muestras recolectadas en toda una planta en distintos puntos de tiempo y con frecuencias variables. A menudo, estos programas se han utilizado durante años y se han modificado a lo largo del tiempo para abordar los requisitos específicos de los clientes y regulaciones o problemas o preocupaciones concretos. Esto puede conducir a programas que representan un enfoque descoordinado y carente de unificación, que podría no utilizar los recursos de manera eficaz, en particular si se añaden con frecuencia nuevos requisitos para el monitoreo ambiental. Por lo tanto, a menudo es esencial que la industria alimentaria y plantas de procesamiento específicas definan más detalladamente el objetivo de los programas de monitoreo ambiental actuales y planificados.

Si bien no parece haber un marco universalmente reconocido para ello, hay algunos posibles enfoques que parecerían lógicos y coherentes con otros aspectos de la gestión de la inocuidad y la calidad de los alimentos, como el HACCP.

Un enfoque basado en el sistema HACCP para desarrollar programas de monitoreo

ambiental con fines específicos podría, por ejemplo, comenzar con una identificación de los "peligros" relacionados con la inocuidad y la calidad de los alimentos. Un fabricante de alimentos podría entonces determinar qué peligros específicos podrían transmitirse a través del ambiente de la planta de procesamiento, reconociendo el hecho de que la planta de procesamiento podría ser una fuente o un vehículo de contaminación cruzada, o ambos. Entonces, se indicarían estrategias de control para manejar cada peligro (por ejemplo, saneamiento, GMP, diseño sanitario de equipos); estas representarían el equivalente de los "controles preventivos no relacionados con el proceso". Posteriormente, una planta podría identificar las actividades de monitoreo ambiental necesarias para validar que un determinado control preventivo no relacionado con el proceso aborde el peligro objetivo (que con frecuencia sería de mucha importancia). A continuación, verificaría la efectividad del control preventivo no relacionado con el proceso validado y se aseguraría de que se aplique de manera consistente (Figura 2).

Cabe señalar que la verificación puede incluir mediciones y registros distintos de las pruebas clásicas de monitoreo ambiental. Por ejemplo, las pruebas de ATP (que pueden utilizarse para verificar la limpieza), combinadas con los registros de las mediciones de la concentración de desinfectante y las hojas de verificación que respaldan el tiempo de aplicación del desinfectante podrían ser suficientes para

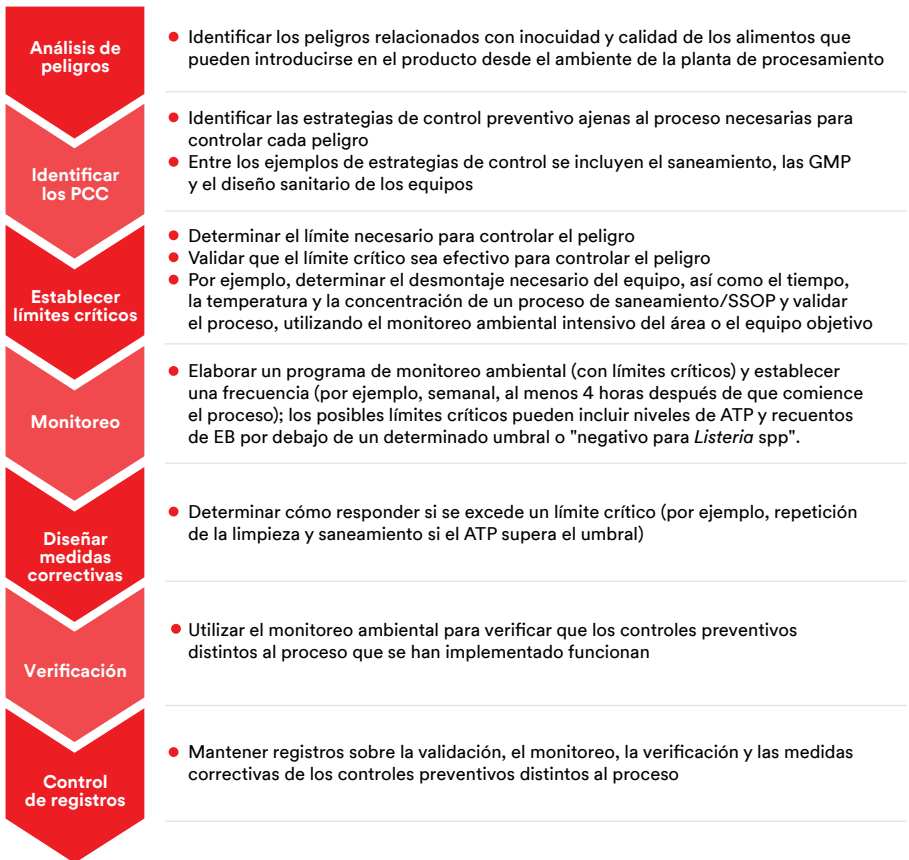


verificar el saneamiento. Además, se deben elaborar medidas correctivas en caso de que no se cumplan los límites críticos de verificación.

Los programas de monitoreo ambiental podrían desarrollarse con fines específicos e implementarse mediante la identificación de controles preventivos clave (sin asignar necesariamente peligros específicos que deban ser manejados por cada

control preventivo), con la subsiguiente identificación de las actividades de monitoreo ambiental necesarias para validar y verificar cada control. Estos enfoques también pueden facilitar el reajuste de las actividades de monitoreo ambiental existentes, incluida la eliminación o revisión de pruebas específicas que ya no tienen objetivos ni propósitos claramente definidos.

**Figura 2.** Enfoque de monitoreo ambiental basado en el sistema HACCP



## 1.3. Analitos objetivo para programas de monitoreo ambiental

En lo que respecta al diseño e implementación de programas de monitoreo ambiental, es esencial identificar los analitos objetivo químicos y biológicos adecuados para probar diferentes muestras y lograr diferentes propósitos (como la verificación y la validación). Los analitos objetivo típicos que se utilizan en los programas de monitoreo ambiental incluyen compuestos que pueden evaluar la efectividad de la limpieza (por ejemplo, ATP o proteínas), alérgenos,

microorganismos indicadores, patógenos y microorganismos deterioradores.

La comprensión de estos analitos objetivo, así como la sensibilidad y especificidad de los ensayos utilizados, es esencial para el diseño e implementación de programas de monitoreo ambiental apropiados, y en los capítulos siguientes se ofrecen más detalles sobre los diferentes analitos objetivo.

## 1.4. Importancia de la coordinación e integración de los programas de monitoreo ambiental

La coordinación e integración de los diferentes aspectos de un programa de monitoreo ambiental puede aumentar la efectividad y la eficiencia del programa. Por ejemplo, en algunas plantas, las pruebas de ATP, las pruebas de alérgenos ambientales y las pruebas microbiológicas ambientales puede que no siempre estén coordinadas y los datos puede que no se analicen en conjunto, a pesar de que todos suelen ayudar a validar o verificar las prácticas de saneamiento. Por consiguiente, los análisis coordinados de las diferentes pruebas pueden permitir una detección rápida y sensible de los problemas de saneamiento.

Por ejemplo, los programas coordinados de muestreo ambiental deben incluir el mantenimiento de registros y el análisis de datos de todos los datos de monitoreo ambiental (ATP, microorganismos indicadores, monitoreo de alérgenos y monitoreo de patógenos) y deben incluir una lista estandarizada de puntos de muestreo que abarque todos los lugares analizados. Las mejores prácticas para los

programas de monitoreo ambiental pueden incluir (entre otras cosas) el mantenimiento de registros electrónicos, la selección adecuada de puntos de muestreo (algunas plantas pueden tener miles de puntos de muestreo, todos con un identificador único), el análisis coordinado e integrado de los diferentes datos de monitoreo ambiental, la revisión regular en persona de todos los datos de monitoreo ambiental (normalmente cada seis a doce meses por lo menos), así como otros enfoques para coordinar e integrar los diferentes programas de muestreo ambiental.

Entre las estrategias y actividades adicionales que facilitan la coordinación e integración de los programas de monitoreo ambiental, se incluyen el uso de planos de planta y gráficos de tendencias que permiten un análisis temporal y espacial integrado de los diferentes datos de monitoreo ambiental, así como los procedimientos operativos estándar (SOP, Standard Operating Procedures) para la recolección de muestras y seguimiento de los resultados fuera de especificación.

## **El control de las fuentes ambientales de contaminantes microbianos es importante para abordar de manera proactiva los problemas de descomposición de los alimentos**

A través de las redes sociales, una sola consumidora fue capaz de transmitir a cerca de medio millón de personas su insatisfacción por la descomposición temprana de una bolsa de jugo. En este caso, los efectos tuvieron tal impacto que la empresa se vio obligada a llevar a cabo un costoso rediseño de su envase para que los consumidores pudieran ver el jugo en la bolsa para asegurarse de que no se había deteriorado. Dado que el ambiente de la planta de procesamiento es la fuente probable de una serie de microorganismos deterioradores, los programas de monitoreo ambiental pueden desempeñar un papel clave no solo en la mejora de la inocuidad de los productos alimenticios, sino también en la identificación y eliminación o la gestión de nichos de organismos causantes de la descomposición.

Dado que las redes sociales permiten a los consumidores comunicar fácilmente problemas relacionados con la descomposición a grandes audiencias, cada vez son más importantes los enfoques proactivos para prevenir incluso problemas de descomposición poco frecuentes. Los programas ambientales bien diseñados proporcionan así una serie de beneficios para las empresas alimentarias y un retorno de la inversión mayor de lo que muchos pueden darse cuenta.

## **1.5. Necesidades de las empresas para los programas de monitoreo ambiental**

Si bien el objetivo principal de los programas de monitoreo ambiental suele ser el control y la reducción de los peligros relacionados con la inocuidad (por ejemplo, los alérgenos y los patógenos microbianos), los programas de monitoreo ambiental también desempeñan una función importante para proteger a las empresas de posibles y costosos retiros de productos del mercado. Por ejemplo, los retiros de productos alimenticios RTE debido a la contaminación con patógenos como *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* pueden atribuirse a menudo a fuentes ambientales.

Los programas eficaces de monitoreo ambiental, en particular los vinculados a propósitos específicos como la validación y verificación de la higiene, pueden reducir notablemente el riesgo de estos retiros. Por ejemplo, los buenos datos de monitoreo ambiental suelen ser esenciales para que las empresas puedan limitar los retiros a un solo lote, día o semana de producción. Ello se debe a que, sin los datos adecuados de validación y verificación, es difícil demostrar de manera contundente que la contaminación del producto final en un día determinado no podría haberse transmitido a los lotes subsiguientes.

Además de los peligros para la inocuidad alimentaria, los problemas de descomposición (incluidos los inconvenientes que causan los organismos introducidos desde el medio ambiente en las plantas de procesamiento) representan un riesgo comercial cada vez mayor para las empresas alimentarias. Los consumidores suelen utilizar las plataformas de las redes sociales para comunicar los problemas

de descomposición de los alimentos y presionar a las empresas para que actúen (Recuadro).

Así, la reducción de los riesgos de los problemas de descomposición y de los retiros de productos del mercado asociados a ellos, gracias a programas eficaces de monitoreo ambiental, representa otro beneficio para las empresas de alimentos.

A pesar de que se sabe que los retiros de productos son extremadamente costosos para las empresas, la cuantificación de los beneficios de los programas de monitoreo ambiental aún se considera un desafío. Mientras que los retiros ocurren muy

pocas veces, los sistemas mejorados de vigilancia de enfermedades transmitidas por alimentos ponen a las empresas en un mayor riesgo de ser identificadas como la fuente de un brote.

Sin embargo, las empresas de alimentos también han visto que los programas eficaces de monitoreo ambiental pueden facilitar la prolongación de los turnos de producción, mejorando así la eficiencia de la producción. Por ejemplo, el monitoreo ambiental puede identificar zonas difíciles de limpiar que pueden eliminarse mediante el rediseño de los equipos, lo que posteriormente permitirá prolongar los períodos de producción.

**Obtenga más información sobre  
el monitoreo ambiental**

[www.3M.com/EnvironmentalMonitoring](http://www.3M.com/EnvironmentalMonitoring)

**Comuníquese con un experto en inocuidad  
alimentaria de 3M**

[www.3M.com/Connect/  
EnvironmentalMonitoring](http://www.3M.com/Connect/EnvironmentalMonitoring)



## Referencias:

1. Mead, P. S., Dunne, E. F., Graves, L., Wiedmann, M., Patrick, M., Hunter, S., Salehi, E., Mostashari, F., Craig, A., Mshar, P., Bannerman, T., Sauders, B. D., Hayes, P., DeWitt, W., Sparling, P., Griffin, P., Morse, D., Slutsker, L., Swaminathan, B. 2006. Nationwide outbreak of listeriosis due to contaminated meat. *Epidemiology and Infection*. 134: 744-751.  
<http://doi.org/10.1017/S0950268805005376>
2. Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. 2008. Multistate Outbreak of *Salmonella* Agona Infections Linked to Rice and Wheat Puff Cereal (ACTUALIZACIÓN FINAL).  
<https://www.cdc.gov/salmonella/2008/rice-wheat-puff-cereal-5-13-2008.html>
3. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2015. Current Good Manufacturing Practice, Hazard Analysis, and Risk-Based Preventive Controls for Human Food; Final Rule. Verification of implementation and effectiveness. § 117.165.  
<https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FSMA/ucm334115.htm>



## CAPÍTULO 2

# Monitoreo de la higiene con base en ATP y proteínas

Por

**Louise Roberts** | Alimenti Food Sciences Ltd**Gareth Lang** | 3M Food Safety**Burcu Yordem** | 3M Food Safety

2.1.	Propósito del monitoreo de la higiene basada en el ATP y proteínas	12
2.2.	Principio de los métodos	12
2.2.1.	Principio de la prueba de ATP	12
2.2.2.	Principio de la prueba de proteínas	14
2.3.	Comparación de los resultados de ATP con los de microbiología	14
2.4.	Desarrollo de un programa de muestreo de ATP o de proteínas	15
2.4.1.	Selección de los puntos de muestreo	15
2.4.2.	Frecuencia de muestreo y número de muestras	18
2.4.3.	Determinación de los niveles máximos para el ATP	19
2.5.	Medidas correctivas basadas en los resultados del muestreo de ATP o de proteínas	21
2.6.	Tendencias y análisis de datos	22
2.7.	Otras consideraciones	25

## 2.1. Propósito del monitoreo de la higiene basada en el ATP y proteínas

Las tecnologías de monitoreo de la higiene que se basan en ATP y proteínas son métodos rápidos y sencillos de utilizar para determinar el estado de higiene de superficies como las que se encuentran en las plantas de procesamiento de alimentos. Iniciar la producción de alimentos es una decisión de alto riesgo que hay que tomar todos los días. Estas pruebas pueden proporcionar una evaluación medible y objetiva de la limpieza de los equipos y las superficies antes de la elaboración o preparación de los alimentos.

La materia orgánica de una superficie puede actuar como fuente de alimento para los microorganismos. La eliminación de esta materia orgánica reduce la oportunidad de que las bacterias y los hongos se multipliquen o crezcan, lo que disminuye el riesgo microbiológico en el ambiente de procesamiento. La eliminación de la materia orgánica también puede aumentar la eficacia de los desinfectantes, mejorando aún más el estado sanitario general de la planta y reduciendo el riesgo.

## 2.2. Principio de los métodos

### 2.2.1. Principio de la prueba de ATP

El ATP (adenosín trifosfato) está presente en todas las células. Es la molécula de energía para la célula y se descompone en ADP (adenosín difosfato), liberando energía para que la célula la utilice.

Además de estar presente en las células vivas, se encuentra en residuos de fuentes orgánicas, tales como:

- restos de alimentos que quedan en una superficie después de la limpieza.
- Biopelículas producidas por bacterias.
- Superficies que los operadores tocan.

**Figura 1.** Cómo el ATP indica los riesgos directos e indirectos







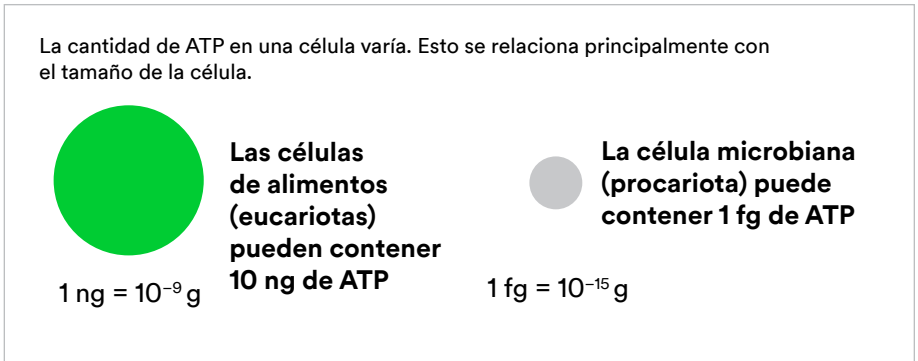
La cantidad de ATP presente en una célula varía dependiendo de una serie de factores, entre ellos si es bacteriano (procarionte) o somático (eucarionte). Es mucho más fácil detectar el ATP de las células de alimento que de las células microbianas, ya que la cantidad de ATP en una célula eucariótica puede ser  $10^7$  veces mayor que en una célula procarionte (Figura 2).

El monitoreo de la higiene usando ATP utiliza la energía presente en la molécula de ATP junto con un complejo enzimático

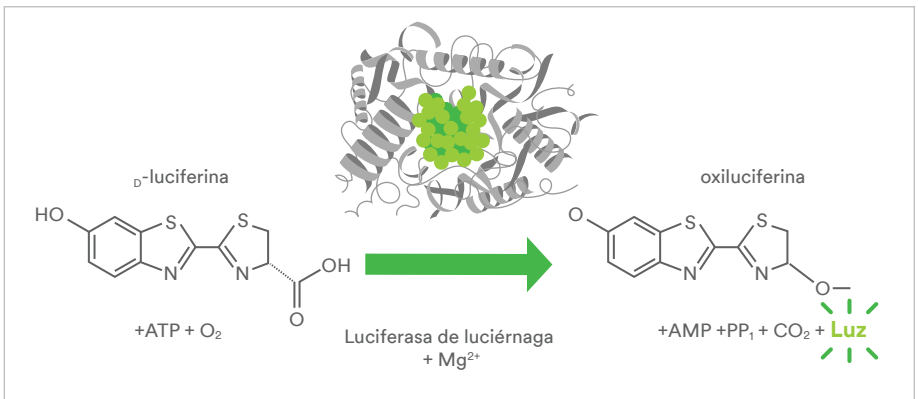
denominado luciferina-luciferasa para producir luz, la misma reacción química que usan las luciérnagas.<sup>1</sup>

En la reacción de bioluminiscencia, la luciferasa utiliza el ATP para catalizar la oxidación de la luciferina a oxiluciferina, produciendo luz (Figura 3). La luz producida es proporcional a la cantidad de ATP presente. Al medir la luz producida, se puede formar una correlación con la cantidad de ATP presente y, por lo tanto, con la cantidad de materia orgánica presente que contiene ATP.

**Figura 2.** Contenido de ATP en diferentes tipos de células



**Figura 3.** Medición del ATP con bioluminiscencia



## 2.2.2. Principio de la prueba de proteínas

La prueba de proteínas es una prueba cualitativa o semicuantitativa basada en el color para detectar la presencia de residuos de proteínas y, por lo tanto, evaluar la limpieza.

La intensidad del color que se produce indica el nivel de proteínas presente. Sin embargo, al igual que con las pruebas de ATP, la tecnología no puede indicar si la fuente de proteínas es o no microbiana.

Las pruebas basadas en proteínas generalmente utilizan la bien conocida reacción de Biuret basada en el cobre (Figura 4). En esta reacción, los iones cúpricos ( $\text{Cu}^{2+}$ ) forman un complejo con los enlaces peptídicos de las proteínas, reduciendo los iones cúpricos a iones cuprosos ( $\text{Cu}^+$ ). Luego, el ácido bicinconínico (BCA) puede formar un

complejo con los iones  $\text{Cu}^+$ , lo que origina un cambio de color.<sup>2</sup>

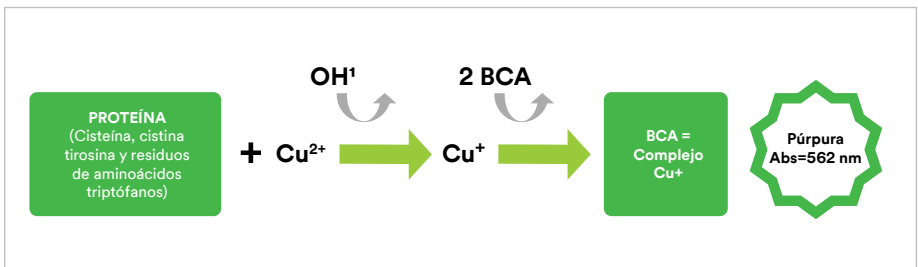
Por lo general, los resultados de las pruebas basadas en proteínas están disponibles en algunos minutos (en comparación con las pruebas basadas en ATP que solo demoran segundos) y son menos sensibles que la tecnología de ATP. Además, los resultados suelen ser solo cualitativos o semicuantitativos, lo que limita su utilidad en el análisis y la tendencia de los datos. Una ventaja importante es que las pruebas de proteínas pueden realizarse, a menudo, sin necesidad de equipos especializados. Además, suelen ser estables a la temperatura, lo que los hace particularmente útiles para plantas con recursos limitados, como auditores y puntos de venta de alimentos.

## 2.3. Comparación de los resultados de ATP con los de microbiología

Si bien las pruebas de ATP y de proteínas son métodos consolidados para medir la higiene, es importante señalar que las tecnologías no pueden utilizarse como sustituto de la microbiología tradicional. La cantidad de ATP o proteína en una sola célula microbiana está muy por debajo de los niveles detectables mediante el uso de pruebas de ATP o de proteínas. Por lo tanto, estos métodos no pueden utilizarse para cuantificar los microorganismos o correlacionar directamente con los resultados de la microbiología. La

función de las pruebas basadas en ATP o en proteínas es evaluar los niveles de limpieza, lo que luego se relaciona con el aumento del riesgo de contaminación microbiana. Un programa efectivo de monitoreo ambiental debe utilizar una combinación de estas tecnologías de una manera metódicamente planificada y bien justificada. Además, los resultados del monitoreo de la higiene se pueden procesar de inmediato, lo que permite llevar a cabo cualquier corrección sin demora.

**Figura 4.** La reacción de Biuret utilizada en las pruebas de proteínas





## 2.4. Desarrollo de un programa de muestreo de ATP o de proteínas

Normalmente, el desarrollo de un programa de monitoreo de la higiene ambiental implica tres pasos.

El primero es el programa inicial para validar el régimen de limpieza. A esto le sigue un programa para la verificación rutinaria del régimen y, finalmente, la revisión continua y el ajuste del programa.

El programa de validación inicial, por lo general, implica una frecuencia de pruebas mucho más alta y más puntos de prueba, y los datos que se recopilan en este programa pueden utilizarse para establecer niveles de referencia. La re-validación es un proceso obligatorio cada vez que se efectúen cambios, como cuando se introducen nuevos productos químicos

o procedimientos de limpieza, se utilizan nuevos equipos o se fabrican nuevos productos.

Entonces, el programa de verificación en curso se suele llevar a cabo con una frecuencia reducida, utilizando menos puntos de prueba. Sin embargo, los datos generados durante este período de tiempo se deben revisar y analizar en forma rutinaria para determinar si existen tendencias o áreas de interés, y también para confirmar que los niveles de aprobado/no aprobado y el programa en sí mismo son adecuados y se ajustan a las necesidades.

Los aspectos específicos de un programa de muestreo se analizarán en otras secciones.

### 2.4.1. Selección de los puntos de muestreo

La selección del lugar de muestreo debe comenzar con un ejercicio de mapeo para tener una idea general de la planta completa y el proceso de producción. Para esto, se tendrá que dividir la planta en varias áreas (zonas), según el riesgo microbiológico para el producto (Figura 5).<sup>3, 4, 5, 6</sup>

Después de haber trazado un mapa del entorno general, se puede iniciar un proceso para determinar los puntos de prueba más apropiados, teniendo en cuenta que el objetivo es evaluar la limpieza y controlar el riesgo que supone tener una superficie sucia.

Este proceso se lleva a cabo mejor como un enfoque de equipo con aportes del personal de limpieza y calidad, combinando la comprensión del propósito de la prueba de ATP y un enfoque del muestreo basado en el riesgo. Cabe señalar que los puntos

de prueba de ATP pueden ser distintos de los puntos de muestreo microbiológico.

Algunos de los principales aspectos que debe considerar el equipo son:

**1 - Etapa de procesamiento.** En cualquier proceso de fabricación que utilice una etapa para reducir el riesgo microbiológico, todos los ambientes de procesamiento que vengan después de esa etapa pueden considerarse de mayor riesgo debido a la posibilidad de contaminación posterior al procesamiento. Todo ambiente de procesamiento ubicado antes de la etapa de reducción microbiológico puede considerarse una zona de menor riesgo, ya que precede al punto de control del peligro. Las etapas de reducción microbiológica pueden adoptar muchas formas, desde la pasteurización hasta el pelado de la fruta.

Cabe señalar que la clasificación de riesgo más bajo asignada a las zonas previas a la reducción microbiológica debe considerarse en el contexto de la etapa de reducción microbiológica validada. Si la limpieza de estas zonas es insuficiente, puede producirse una contaminación microbiana acumulativa, lo que hace que las etapas de procesamiento posteriores sean insuficientes.

### **2 - Proximidad con los alimentos y posibilidad de contaminación cruzada.**

Por lo general, una superficie que tiene contacto directo con un producto que no será procesado posteriormente para eliminar el riesgo microbiológico es un punto de alto riesgo. Por el contrario, una superficie que no tiene contacto con el producto y/o donde el producto será procesado posteriormente para eliminar el riesgo microbiológico es un punto de riesgo menor.

Además de las superficies de contacto directo, también se debe considerar la posibilidad de contaminación cruzada, lo que incluye:

- Proximidad de la superficie al producto, por ejemplo, si el equipo está por encima del producto y si hay riesgo de contaminación, como gotas de agua en un ambiente húmedo.
- Paneles de control, utensilios o herramientas y si hay riesgo de contaminación cruzada por parte de los operadores.

**3 - Facilidad de limpieza y condiciones de la superficie que se someterá a prueba.** Si bien el diseño sanitario y el buen mantenimiento deben ser fundamentales en cualquier planta, pueden surgir circunstancias en las que estos aspectos no sean los óptimos. Para abordar este riesgo, se debe considerar la evaluación de una superficie para ver si el estado o el material de la superficie puede reducir la efectividad de la limpieza. El nivel de riesgo asociado a la superficie puede aumentar cuando la limpieza es difícil. Entre los ejemplos figuran equipos antiguos, superficies porosas, superficies rayadas o con marcas y accesibilidad reducida.

A continuación, presentamos una forma sencilla y conveniente de realizar el análisis de riesgos (Figura 6) y comprender el posible riesgo que se quiere mitigar mediante el monitoreo de la higiene:

Análisis de riesgos:

- ¿Qué tan importante es el peligro? = ¿Qué tan cerca está la superficie de los alimentos?
- ¿Cuál es la probabilidad de que ocurra el peligro? = ¿Qué tan difícil de limpiar es la superficie?

Figura 5. Zonas de muestreo de monitoreo ambiental

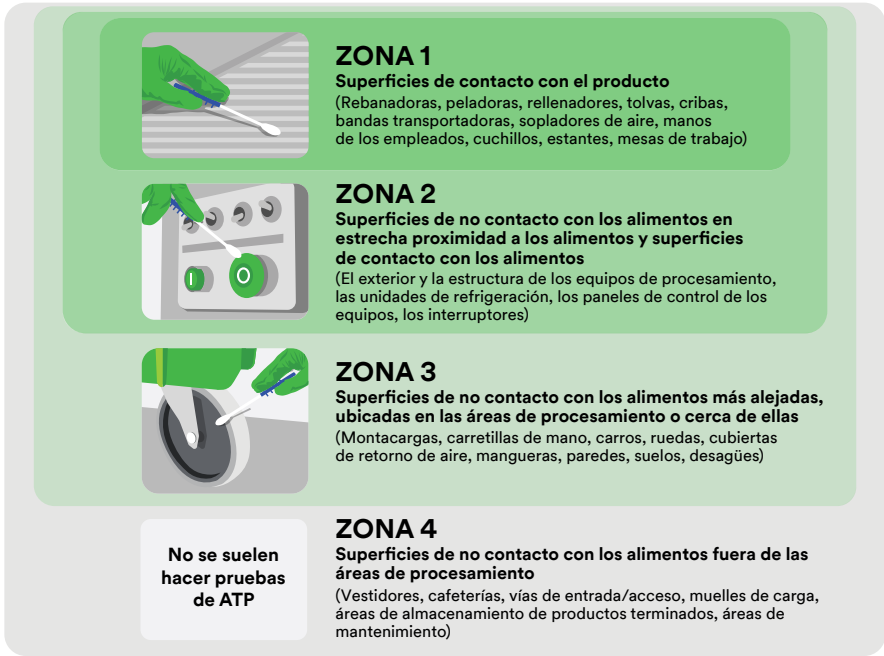
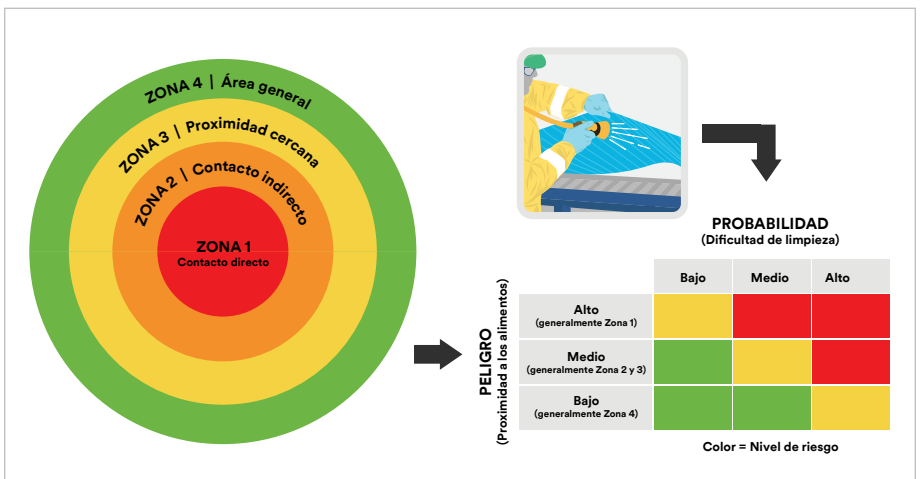


Figura 6. Identificación de los puntos de muestreo de alto riesgo





Sobre la base de estos principios, el uso de tecnologías de monitoreo de la higiene, como los hisopos para ATP y proteínas, normalmente se dirige hacia los puntos de prueba de la Zona 1 (contacto con el producto o el embalaje). En una planta "bajo control", las áreas de la Zona 1 estarán libres de patógenos y tendrán bajos niveles de microorganismos indicadores (ambos temas se tratan en otros capítulos). Con la reducción de la probabilidad de que se produzcan riesgos directos en estos puntos, el objetivo principal debe ser controlar los riesgos indirectos, como las superficies sucias que pueden dar lugar a la aparición de riesgos directos o afectar a la calidad del producto.

En las plantas de producción de alimentos de mayor tamaño, es posible que los equipos sean más complejos e incluyan sistemas manuales y de limpieza in situ (CIP, Clean-in-Place). En tales instalaciones también se debe establecer un programa amplio que incluya pruebas de indicadores y de patógenos. En plantas

más pequeñas, como las cocinas de los servicios de banquetes, la capacidad para realizar pruebas microbiológicas puede ser limitada. En estos casos, las pruebas de ATP pueden utilizarse cada vez más en la Zona 2, las superficies de contacto indirecto con alimentos que representan un riesgo de contaminación cruzada.

Este mismo enfoque puede utilizarse para cualquier planta, aunque en casos como las plantas que utilizan un sistema de limpieza CIP, la capacidad de acceder a las superficies de mayor riesgo puede ser limitada. Ante esto, se puede utilizar la prueba de ATP del agua de enjuague final para indicar el nivel de limpieza alcanzado.

También pueden incluirse puntos de prueba adicionales como resultado de las acciones correctivas y acciones preventivas (CAPA, Corrective and Preventive Action) o durante cualquier actividad de validación posterior a un cambio de proceso, como la construcción o modificación del equipo existente.

## 2.4.2. Frecuencia de muestreo y número de puntos de prueba muestreados

Una vez identificados los puntos de muestreo, se debe utilizar una combinación de los objetivos de las pruebas (validación de la limpieza o verificación continua) y los resultados del ejercicio de clasificación de riesgos realizado anteriormente para determinar la frecuencia y el número de puntos de prueba que se deben muestrear.

Los principales factores que determinan el número de puntos de prueba para la muestra son el tamaño físico de la operación de fabricación y la complejidad o el número de etapas del proceso de fabricación. Por ejemplo, cuando hay involucradas varias etapas de fabricación o piezas de maquinaria que se consideran un riesgo, se debe tomar una muestra de cada una de ellas. En los casos de maquinarias complejas o grandes, se deben considerar varios puntos de prueba.

Los procesos de producción altamente manuales pueden justificar que se incluyan más puntos de prueba de la Zona 2 en el plan de muestreo, ya que la operación manual supone un mayor riesgo de contaminación cruzada por parte del personal de producción.

Las áreas de la Zona 1 deben tener la mayor frecuencia de muestreo, la cual debe realizarse a diario, idealmente durante cada proceso de limpieza y saneamiento y, posiblemente, también como parte de la rutina de inicio de la producción. Esto garantiza que se puedan tomar medidas correctivas antes de que el producto final se vea comprometido. Cuando hay un número elevado de puntos de prueba, puede resultar más económico aleatorizar o rotar una porción de la prueba, pero debe considerarse cuidadosamente para asegurarse de que se siga logrando una higiene general.



Para la Zona 2 o las áreas de menor riesgo, el régimen de muestreo puede darse con una frecuencia menor, pero debe seguir siendo suficiente para garantizar que se mantengan los niveles de limpieza e higiene antes de que puedan ocasionar problemas más amplios. Las frecuencias de muestreo de la Zona 2 podrían incluir la rotación del muestreo durante un período de tiempo determinado hasta que todas las áreas sean sometidas a prueba, una comprobación periódica (semanal, por

ejemplo) de todos los puntos de prueba o una selección diaria aleatoria.

En cualquier punto de prueba en el que no se realice una prueba basada en ATP o en proteínas, por ejemplo debido a la rotación del muestreo, se debe realizar una inspección visual y registrar los resultados o las medidas correctivas tomadas. También se puede llevar a cabo una inspección visual antes de la prueba de ATP o de proteínas.

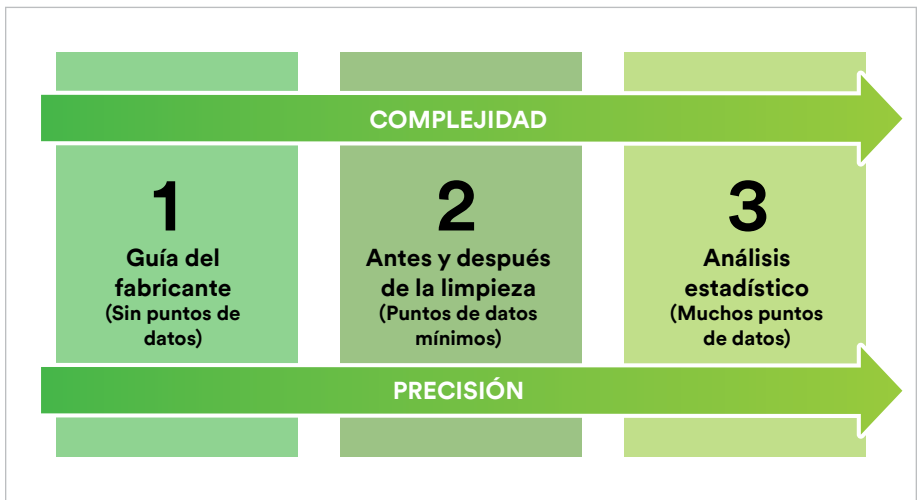
### 2.4.3. Determinación de los niveles máximos para el ATP

Como ocurre con cualquier método de prueba, se deben establecer resultados o niveles de monitoreo de la higiene que estén fuera de los límites aceptables y que requieran medidas correctivas. Si bien muchos otros tipos de prueba tienen niveles bien establecidos o regulados en los cuales deben tomarse medidas correctivas, los niveles de higiene aceptables son muy específicos del usuario y deben reflejar las necesidades de la planta o el proceso en particular. Numerosos sistemas basados

en ATP o en proteínas también tienen la opción de establecer un margen de precaución que se sitúa entre un aprobado y un reprobado.

Con la tecnología de detección de ATP se pueden utilizar varios métodos para determinar esos niveles, y algunos métodos aumentan el grado de complejidad y precisión más que otros. Estos pueden resumirse en tres métodos principales (Figura 7).

**Figura 7.** Métodos comunes para determinar los umbrales de prueba de ATP





### 1. Guía del fabricante

El método más sencillo, y a menudo el primer paso que se utiliza para determinar los niveles máximos, es solicitar orientación al fabricante del sistema de ATP que se está aplicando. En esta situación, la orientación debe reflejar los tipos de productos fabricados o los tipos de equipos o superficies en los que se están tomando las muestras. También se puede buscar una orientación similar a través de los contactos de la industria, las publicaciones o los fabricantes de los equipos de producción en uso.

Independientemente de la fuente de la orientación, los niveles deben revisarse apenas se disponga de datos para asegurarse de que sean útiles. Como mínimo, esto debe implicar la realización de pruebas tanto en superficies limpias como sucias para asegurarse de que la aprobación o reprobarción son acordes a las expectativas.

Debe quedar muy en claro que los fabricantes de sistemas de ATP utilizan diferentes escalas de medición, por lo que los valores de aprobado/reprobado no pueden trasladarse de una marca a otra.

### 2. Antes y después de la limpieza

Este método, relativamente simple y más personalizado, puede tener numerosas variaciones. Como mínimo, implicará la realización de mediciones durante varios días de puntos de prueba representativos antes y después de la limpieza. También puede significar la toma de varias mediciones después de una limpieza profunda para mostrar lo que se puede lograr.

Una vez que se hayan reunido los datos, deberán revisarse para establecer con qué facilidad pueden diferenciarse la limpieza y la suciedad y aplicar los niveles de aprobado o reprobado, según corresponda. Un ejemplo puede ser utilizar un nivel de aprobación que sea el doble del valor promedio de limpieza, siempre que se pueda diferenciar claramente entre limpio y sucio.

Si el objetivo es lograr una mejora inmediata de la higiene en lugar de mantener los niveles actuales, los niveles de limpieza pueden basarse en los resultados de una limpieza profunda en vez de una limpieza de rutina.

### 3. Análisis estadístico

Aunque es más complicado, el uso de un análisis estadístico dará como resultado el establecimiento de valores más útiles de aprobado/reprobado. La realización de un análisis estadístico implicará la recopilación de un mayor número de resultados (puntos de datos) de superficies limpias, siendo necesario un mínimo de 30 para que el análisis sea significativo. Idealmente, se recolectará el mínimo de 30 puntos de datos de cada punto de prueba y se analizarán individualmente, aunque también es posible agrupar puntos de prueba similares (en términos de tipo de superficie, producto y riesgo, etc.) para obtener los 30 puntos de datos para el análisis.

Las estadísticas utilizadas pueden variar, aunque dos enfoques comunes utilizan una distribución normal estándar o un porcentaje aceptado de aprobado/reprobado. Ambos casos se describen a continuación. Para obtener una orientación más detallada y herramientas que ayuden a determinar los niveles de aprobado/reprobado, se debe contactar al fabricante del sistema de ATP.

Para los dos tipos de análisis aquí descritos, se debe llevar a cabo una revisión inicial para confirmar que el conjunto de datos es aceptable. Esto puede lograrse realizando un simple trazado de los valores de las unidades relativas de luz (RLU, Relative Light Unit) a lo largo del tiempo, seguido de una revisión para excluir cualquier valor atípico evidente (valores altos de RLU) que pueda desviar los resultados. Esta revisión debe efectuarse utilizando una escala que tenga en cuenta los resultados que se esperarían de una superficie que no esté limpia. Si los resultados son erráticos, esto indica que el proceso de limpieza es muy variable y debe investigarse y estabilizarse.





Una vez que se haya obtenido un conjunto de datos aceptables, se podrán determinar estadísticamente los niveles de aprobado/reprobado. Para utilizar un método basado en la distribución normal estándar, deben calcularse la media y la desviación estándar. El nivel de aceptación puede entonces determinarse al agregar dos o tres desviaciones estándar a la media, que corresponden a ~95% o ~99% de los resultados, respectivamente.

Un método alternativo utiliza un nivel aceptado de eficacia de la limpieza que la empresa cree que está logrando (por ejemplo, el 95%) o puede considerarse como el porcentaje de mejora de la limpieza que le gustaría lograr (por ejemplo, el 5%). Para utilizar este método, se genera un histograma de los resultados y se determina que el nivel en el que se alcanza el número necesario de aprobado/

reprobado (por ejemplo, el 95%) es el nivel de aprobado/reprobado.

Una vez que se han establecido los niveles de aprobado y reprobado, se deben revisar para asegurarse de que reflejan el desempeño real de la limpieza. Cuando las pruebas de ATP se utilizan de forma eficaz y se aplica un proceso de CAPA, normalmente se produce una mejora en los niveles de higiene y una posterior disminución de los resultados de ATP promedio en un breve espacio de tiempo.

Para tener en cuenta la mejora de los niveles de higiene, los niveles de aprobado y reprobado se deben revisar tan pronto como se disponga de suficientes datos adicionales. Posteriormente, se deben completar revisiones periódicas como parte de un enfoque de mejora constante.

## 2.5. Medidas correctivas basadas en los resultados del muestreo de ATP o de proteínas

Como se ha señalado, uno de los principales beneficios de estos métodos de monitoreo de la higiene es la rapidez con que se obtienen los resultados, lo que permite realizar correcciones de inmediato.

Las correcciones que se apliquen en caso de que un resultado falle deben documentarse como parte del sistema de calidad y someterse a seguimiento con medidas correctivas para evitar que vuelva a ocurrir. En el caso de la monitoreo de la higiene, el resultado de una prueba fallida suele dar pie a una nueva limpieza y a la repetición de la prueba hasta que se consigue un nivel de aprobado. En ocasiones, se puede aplicar un margen de precaución en el sistema. En esos casos, es posible que la medida correctiva no justifique la adopción de medidas inmediatas, sino una limpieza

más exhaustiva o un control más estricto antes de la siguiente ronda de producción.

Si bien en la sección siguiente las tendencias y análisis de datos se abordan más detalladamente, los resultados de fallas o precauciones que se repiten deben investigarse con carácter prioritario por parte de las personas in situ que conocen el proceso, y se deben aplicar las medidas preventivas correspondientes.

Junto con la velocidad y la sensibilidad, un beneficio clave del monitoreo de la higiene sobre la base del ATP es la capacidad de establecer tendencias y analizar los datos que se generan a lo largo del tiempo. Esto proporciona una mejor comprensión y, en última instancia, el control de los procesos de higiene y producción de la planta.

## 2.6. Tendencias y análisis de datos

Los fabricantes de sistemas de ATP suelen suministrar el software para la gestión de los datos, aunque las capacidades de análisis de datos y la posibilidad de presentar datos significativos varían con cada uno de ellos (Figura 8).

Cuando se analizan datos y se establecen tendencias, los aspectos que deben monitorearse de manera rutinaria incluyen la consistencia de la limpieza, la idoneidad de los niveles de aprobado/reprobado, las tendencias o patrones y las áreas de interés.

**Figura 8.** Software de tendencias de datos para evaluar la consistencia de la limpieza



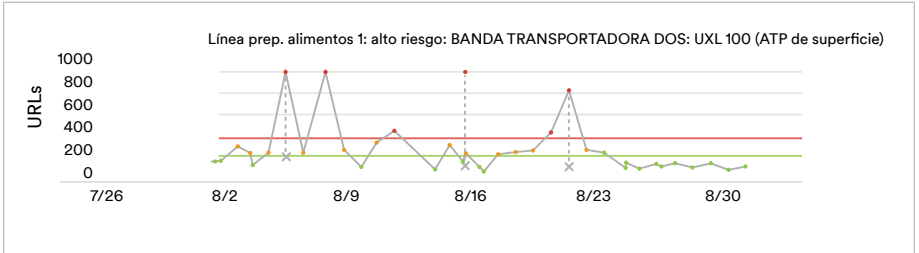


**La consistencia de la limpieza** puede evaluarse a través de un simple gráfico de líneas (Figura 9a-b). Si el gráfico muestra un alto grado de variabilidad, indica que el proceso de limpieza no está bajo control.

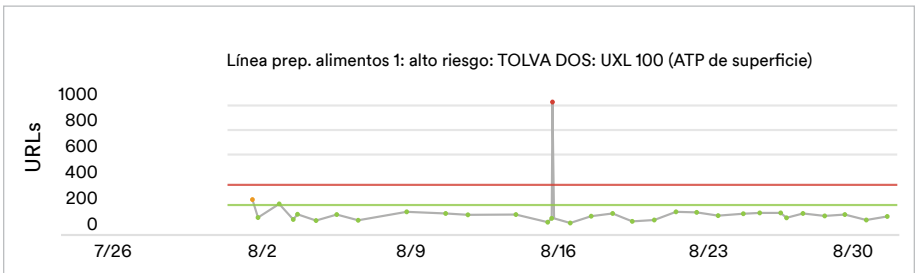
Las áreas comunes que se deben investigar para comprender la causa raíz de un control de limpieza deficiente incluyen la capacitación del personal, los métodos o herramientas de limpieza, las variaciones en los productos elaborados y la técnica de muestreo.

También pueden identificarse tendencias o patrones al utilizar conjuntos de datos a más largo plazo en forma de un gráfico lineal (Figura 10). Estas tendencias pueden reflejar la mejora o el descenso de los niveles de higiene a nivel de planta o de punto de prueba, y pueden utilizarse como evidencia del mejoramiento de las prácticas de higiene o de la identificación de las zonas que deben investigarse.

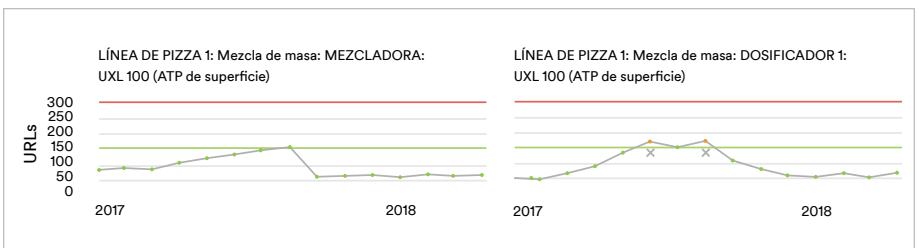
**Figura 9a.** Alto grado de variación / inconsistencia de los resultados a lo largo del tiempo. La limpieza no está bajo control.



**Figura 9b.** Bajo grado de variación / inconsistencia de los resultados a lo largo del tiempo. La limpieza está bajo control.



**Figura 10:** Identificación de la tendencia de limpieza a partir de los datos de ATP a largo plazo





Toda tendencia adversa que se observe debe investigarse para comprender la causa raíz y puede incluir las siguientes observaciones y causas:

- Las tendencias a largo plazo pueden estar asociadas a la variación estacional o al desgaste de las superficies de los equipos. En estos casos, la higiene podría mejorarse mediante una mayor limpieza en las correspondientes épocas del año o podrían sustituirse los equipos desgastados.
- Los patrones que se producen con regularidad pueden estar vinculados a la producción programada de diferentes productos o a los cambios de las cuadrillas de limpieza.
- Los cambios de pasos pueden indicar una modificación en las prácticas de limpieza, los productos químicos o los equipos.

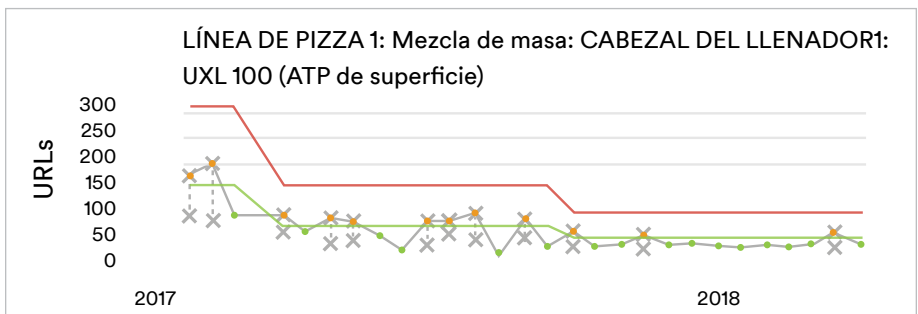
**Las áreas de interés** se pueden identificar a través del análisis de los puntos de prueba para detectar la frecuencia de los resultados de fallas, lo que indica que el punto de prueba es consistentemente difícil de limpiar. Este nivel de análisis se hace más complejo y, por lo general, requiere el uso de un sistema de software capaz de realizar esa tarea automáticamente, aunque también podría hacerse en forma manual si se dedicara suficiente tiempo al análisis.

**La idoneidad de los niveles de aprobado/reprobado** también debe examinarse de manera continua (Figura 11). La evaluación

de estos puntos de referencia puede realizarse de varias maneras, pero puede incluir la evaluación de cada punto de prueba por su historial de fallo. Si a lo largo de un período de tiempo prolongado o de muchas mediciones el punto de prueba nunca ha fallado, es probable que los niveles de aprobado/reprobado sean muy poco estrictos o que deba revisarse el nivel de riesgo asociado con ese punto. Después de la revisión, pueden establecerse los niveles apropiados de aprobado/reprobado, como se explicó en la sección anterior. También es una práctica común un sistema de mejora continua mediante la reducción regular de los niveles de aprobado/reprobado.

En general, el uso de pruebas basadas en ATP y en proteínas debe considerarse no solo como un instrumento conveniente para determinar con rapidez los niveles de higiene de una superficie antes de iniciar la producción, sino también como una inversión en datos relacionados con el proceso de producción. Una vez generados, los datos se deben analizar y utilizar como una herramienta para administrar el sitio de manera más eficaz y demostrar que se están alcanzando los objetivos de higiene. Esto puede conducir a un enfoque bien informado y centrado para gestionar la higiene de cualquier zona determinada y también puede utilizarse como ayuda para la capacitación o para optimizar los regímenes de limpieza, los tiempos de producción continua o el uso de productos químicos o desinfectantes de limpieza.

**Figura 11.** Adopción de niveles más estrictos de aprobado/reprobado para la mejora continua del control de la higiene





## 2.7. Otras consideraciones

Se recomienda enfáticamente realizar un ensayo con cualquier sistema rápido de monitoreo de la higiene, lo que debe replicar una parte del programa completo de muestreo. Como se mencionó anteriormente, también es muy importante señalar que, si bien todos los sistemas de ATP dan resultados en "RLU", las lecturas de los diferentes fabricantes no son intercambiables. Por ejemplo, una lectura de 10 RLU de un fabricante puede equivaler a 50 RLU de otro fabricante, por lo que los niveles de aprobado/reprobado deben determinarse de manera independiente para cada sistema.

Además, las pruebas de ATP pueden complementarse con una inspección visual y pruebas microbiológicas. La inspección visual puede arrojar rápidamente una perspectiva general de la efectividad de los procesos de limpieza, pero tiene limitaciones porque los microorganismos no pueden verse a simple vista. Las pruebas microbiológicas pueden enumerar los organismos que pueden causar contaminación; sin embargo, no pueden proporcionar resultados inmediatos en la planta de fabricación. Un programa sólido de monitoreo de la higiene utilizaría los tres métodos complementarios.

## ESTUDIO DE CASO

Este estudio de caso se ha seleccionado como un ejemplo de la forma en que puede utilizarse un sistema rápido de monitoreo de la higiene para medir y gestionar la higiene de las zonas de preparación de alimentos.

### El lugar de fabricación

El fabricante operaba una planta de tamaño mediano de cocina-refrigeración, que proporcionaba carnes crudas preparadas, verduras y varias comidas preparadas. Se había construido a tal efecto con áreas totalmente separadas de bajo riesgo y de alto cuidado, así como una carnicería y zonas de preparación de vegetales.

Durante la fase de preproducción se introdujo en el lugar un sistema rápido de monitoreo de la higiene basado en el ATP, tanto como instrumento de capacitación del personal como para reunir datos de referencia para determinar los niveles de aprobado/reprobado que se utilizarían durante la producción de rutina.

La convicción de que la evaluación visual era suficiente para determinar el estado higiénico de una superficie se descartó rápidamente, ya que los resultados de ATP mostraban lecturas mucho más altas de las

que deberían alcanzarse para los tipos de superficies y procesos que se utilizaban.

Usando el sistema de ATP como medida objetiva de la limpieza, el personal a cargo pudo entonces mejorar sus métodos de trabajo para que los resultados de ATP volvieran a los niveles que se sabía que eran posibles de alcanzar en plantas similares. Esta fase de la implementación del sistema de ATP se utilizó para estabilizar la limpieza y demostrar que estaba bajo control antes de pasar a un nuevo análisis de los datos para perfeccionar y personalizar los niveles de aprobado/reprobado. El uso de una medida objetiva de la limpieza también reforzó la importancia de haber aplicado correctamente las prácticas de limpieza e inculcó una cultura de buena higiene entre el personal.

En principio, el sistema se utilizó únicamente para confirmar la higiene del área de alto cuidado, pero una vez establecido y en pleno funcionamiento, el uso del sistema se amplió para monitorear y ayudar a mejorar las prácticas de higiene en otras zonas (por ejemplo, la carnicería y el lavado), aunque con menor frecuencia, en consonancia con las clasificaciones de riesgo más bajas en esas áreas.

Con el tiempo, la gama de productos preparados en el establecimiento se amplió para incluir más alimentos listos para el consumo (RTE), a los que se dio una zona definida y separada. El análisis de los datos históricos de las demás zonas de producción se utilizó para determinar que en esta zona se podía aplicar un valor más bajo de aprobado/reprobado, reconociendo los mayores niveles de higiene previstos para los productos listos para el consumo.

El uso continuo del sistema de ATP ha permitido que las diferentes zonas se liberen para la producción con la confianza de que se están cumpliendo y manteniendo altos niveles de higiene. Los resultados

de las pruebas microbiológicas también tuvieron una buena correlación con los niveles de higiene, aunque se observaron discrepancias ocasionales, lo que pone de relieve la necesidad de una combinación de métodos de prueba para gestionar el riesgo microbiológico en una planta. Hubo resultados de hisopos microbiológicos que superaban los límites aceptables de vez en cuando, pero estos eran poco frecuentes y se resolvían con rapidez, lo que daba lugar a un "aprobado" en la nueva prueba.

El análisis continuo de los datos ha permitido gestionar la higiene de las plantas de manera proactiva en lugar de reactiva, lo que hace posible tener un sistema de mejora continua.

**Obtenga más información sobre el monitoreo de la higiene**  
[www.3M.com/ATPMonitoring](http://www.3M.com/ATPMonitoring)

**Comuníquese con un experto en inocuidad alimentaria de 3M**  
[www.3M.com/Connect/ATPMonitoring](http://www.3M.com/Connect/ATPMonitoring)

## Referencias:

1. Chappelle, E.W., Levin, G.V. 1968. Use of the firefly bioluminescence reaction for rapid detection and counting of bacteria *Biochemical Medicine*. 2: 41– 52. [https://doi.org/10.1016/0006-2944\(68\)90006-9](https://doi.org/10.1016/0006-2944(68)90006-9)
2. Smith, P.K., Krohn, R.I., Hermanson, G.T., Mallia, A.K., Gartner, F.H., Provenzano, M.D., Fujimoto, E.K., Goeke, N.M., Olson, B.J., Klenk, D.C. 1985. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*. 150: 76-85. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(85\)90442-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(85)90442-7)
3. Dairy Food Safety Victoria. 2016. Dairy Pathogen Manual. <http://www.dairysafe.vic.gov.au/publications-media/regulations-and-resources/guidelines>
4. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2017. Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods: Guidance for Industry; Draft Guidance. <https://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm073110.htm>
5. United Fresh Produce Association. 2013. Guidance on Environmental Monitoring and Control of *Listeria* for the Fresh Produce Industry. <http://www2.unitedfresh.org/forms/store/ProductFormPublic/guidance-on-environmental-monitoring-and-control-of-listeria-for-the-fresh-produce-industry>
6. Simmons, C.K., Wiedmann, M. 2018. Identification and classification of sampling sites for pathogen environmental monitoring programs for *Listeria monocytogenes*: Results from an expert elicitation. *Food Microbiol*. 75: 2-17. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.07.005>







## CAPÍTULO 3

# Monitoreo ambiental de microorganismos indicadores

Por

**Kelly Stevens** | General Mills**Jean-Francois David** | 3M Food Safety**Cari Lingle** | 3M Food Safety

3.1.	Propósito del monitoreo ambiental de microorganismos indicadores	30
3.2.	Microorganismos indicadores y su importancia en el ambiente de procesamiento de alimentos	30
3.2.1.	Recuento total en placa	31
3.2.2.	Coliformes	32
3.2.3.	<i>Enterobacteriaceae</i>	32
3.3.	Desarrollo de un programa de muestreo de indicadores	33
3.3.1.	Selección de los puntos de muestreo	33
3.3.2.	Frecuencia de muestreo y número de muestras	35
3.3.3.	Tendencia de datos, análisis y establecimiento de una referencia para los microorganismos indicadores	36
3.3.4.	Determinación de los niveles máximos para microorganismos indicadores	37
3.4.	Medidas correctivas basadas en los resultados de los microorganismos indicadores	38
3.5.	Identificación de las fuentes de microorganismos indicadores	38
3.6.	Resumen	39



## 3.1. Propósito del monitoreo ambiental de microorganismos indicadores

El término microorganismo indicador se define como un microorganismo o grupo de microorganismos que refleja el estado microbiológico general de un alimento o del medio ambiente.<sup>1</sup> La presencia de microorganismos indicadores no proporciona ninguna información sobre la posible presencia o ausencia de un patógeno en particular ni ofrece una evaluación del posible riesgo para la salud pública. Sin embargo, los datos de los programas de monitoreo ambiental que incorporan microorganismos indicadores pueden utilizarse para:

- Determinar el estado higiénico de los equipos de procesamiento y del ambiente.
- Comprender la ecología microbiana del ambiente de procesamiento.
- Validar o verificar la limpieza y el saneamiento (normalmente, las pruebas de microorganismos indicadores validarían o verificarían el saneamiento, mientras que las pruebas de ATP (consulte el Capítulo 2) se utilizarían para validar o verificar la limpieza).

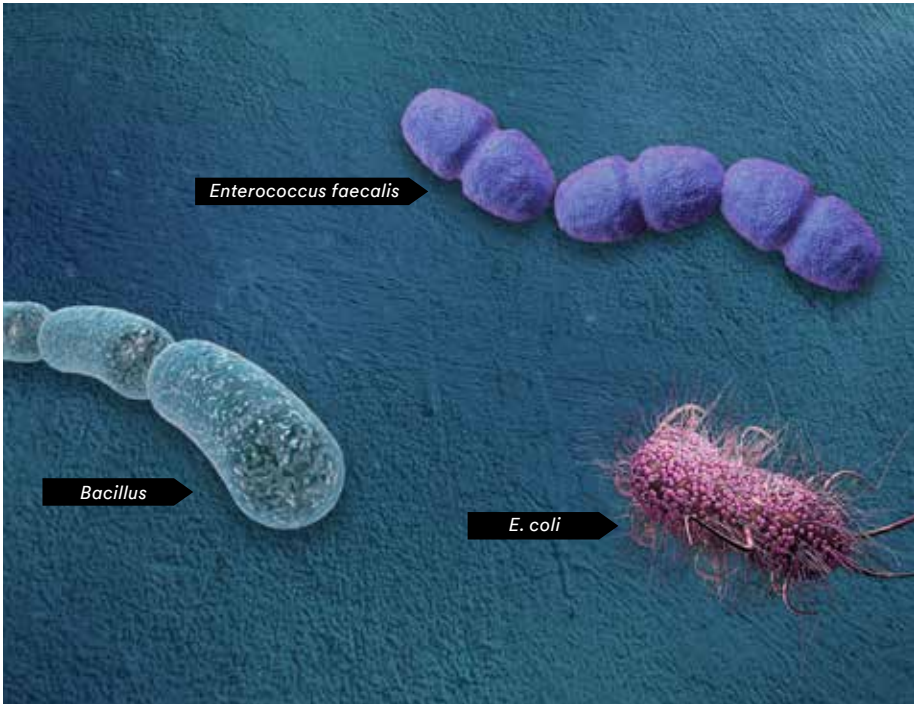
- Verificar los pasos de control del proceso.
- Evaluar el riesgo de contaminación posterior al procesamiento.

La función de las pruebas de microorganismos indicadores sigue siendo a menudo mal entendida por los microbiólogos alimentarios, el personal de control de calidad y entre otros; muchos asumen incorrectamente que la detección de microorganismos indicadores por encima de un determinado nivel sugiere la presencia de patógenos. A diferencia de los "microorganismos indicadores", los microorganismos cuya presencia (o detección por sobre un umbral) sugiere en realidad un mayor riesgo de presencia de un patógeno ecológicamente similar se denominan "microorganismos índices". Sin embargo, existe un considerable escepticismo entre muchos sobre si hay algún microorganismo que pueda considerarse con precisión como un verdadero "microorganismo índice", con posible excepción de *Listeria* spp.

## 3.2. Microorganismos indicadores y su importancia en el ambiente de procesamiento de alimentos

Alguna vez considerados como un indicio de contaminación fecal o de posible contaminación de patógenos, los microorganismos indicadores se incorporaron en las pruebas microbiológicas de los alimentos a principios del siglo XX. Las pruebas de estos microorganismos dieron una visión más amplia de los microorganismos en las materias primas, el producto final y el ambiente en lugar de buscar una

especie en particular. Los microbiólogos sabían que si el proceso de fabricación estaba realmente bajo control, el número de microorganismos indicadores también estaría bajo control. Entre los microorganismos indicadores que pueden usarse para programas de monitoreo ambiental se incluyen aquellos reportados por los ensayos de recuento total en placa, coliformes y *Enterobacteriaceae*.



### 3.2.1. Recuento total en placa

El recuento total en placa (TPC, Total Plate Count), también conocido como recuento de aerobios en placa (APC, Aerobic Plate Count), recuento estándar en placa (SPC, Standard Plate Count), recuento total viable (TVC, Total Viable Count) o recuento mesofílico (MC, Mesophilic Count), representa una de las pruebas de indicadores más habituales, aunque los métodos que se usan en distintas partes del mundo varían ligeramente. En el fondo, estos métodos tienen importantes puntos en común: un medio nutritivo no selectivo incubado en condiciones aeróbicas utilizado para la enumeración. La finalidad del método es proporcionar información sobre la población total de bacterias presentes capaces de crecer ante la presencia de oxígeno a temperaturas mesofílicas.

El TPC tiene muchas aplicaciones. Por ejemplo, el número total de microorganismos presentes puede afectar tanto a la calidad como al riesgo potencial de deterioro de un producto terminado. En su aplicación como organismo indicador, el TPC se utiliza para proporcionar una indicación de la población microbiana total en una superficie o en una muestra.<sup>2</sup> Más específicamente, el TPC es un método extremadamente útil para validar y verificar los procedimientos de saneamiento. Los recuentos de TPC que superen un determinado umbral sugerirían normalmente que el saneamiento del ambiente o el equipo específico fue ineficaz o se realizó de forma inadecuada.



## Utilización de coliformes como indicador para el monitoreo ambiental

Si bien existe un consenso general con respecto a que la detección de coliformes no constituye evidencia de contaminación fecal, varios países (por ejemplo, Japón) e industrias (por ejemplo, la industria lechera de los Estados Unidos) tienen sus propios reglamentos sobre coliformes. Por ejemplo, en Japón, los coliformes están históricamente bien reconocidos en varios reglamentos para las industrias alimentarias. Por lo tanto, los coliformes se utilizan ampliamente en Japón como indicadores para el monitoreo de los ambientes de producción.

El monitoreo ambiental de los coliformes se considera valioso, ya que la presencia de estas bacterias en los productos terminados suele ser el resultado de fuentes ambientales después de los puntos de control críticos (PCC), generalmente la etapa de tratamiento térmico, salvo en raras ocasiones en que puede indicar un fallo de los PCC. Cuando se utilizan coliformes en el monitoreo ambiental, los niveles altos de coliformes pueden a veces incluso derivar en la realización de pruebas adicionales de seguimiento de patógenos. Por consiguiente, a pesar de la creciente preferencia por las pruebas de *Enterobacteriaceae* en detrimento de las pruebas de coliformes, las pruebas de coliformes en muestras ambientales pueden seguir siendo comunes en varios países e industrias.

## 3.2.2. Coliformes

Los coliformes son un grupo diverso de bacterias Gram negativas, bacilos que no forman esporas, que se caracterizan por su capacidad de fermentar la lactosa para producir ácido y/o gas de dióxido de carbono. La definición precisa varía según los métodos estándar aceptados internacionalmente. Tradicionalmente, durante mucho tiempo se creyó que las pruebas de coliformes derivadas de la búsqueda de *E. coli* y la presencia de coliformes indicaban una contaminación fecal. Sin embargo, tras décadas de investigar este diverso grupo de bacterias, las pruebas señalan que apenas una fracción es de origen fecal, mientras que la mayoría son contaminantes ambientales.<sup>3</sup>

Las pruebas de coliformes se utilizan para dejar en evidencia una limpieza inadecuada, condiciones insalubres o contaminación posterior al proceso. Sin embargo, cabe mencionar que las pruebas de coliformes solo detectan un subconjunto de los organismos que pueden estar presentes en una planta de procesamiento de alimentos. Por ejemplo, los miembros del género *Pseudomonas*, que representan importantes microorganismos deterioradores en muchos alimentos, no se detectan con las pruebas de coliformes. Por este motivo, una prueba de coliformes puede que no detecte ciertos problemas con un programa de saneamiento, que sí se podrían detectar con otra prueba (por ejemplo, TPC). Por lo tanto, las pruebas de coliformes se utilizan mejor en combinación con otras pruebas, como la TPC, para validar o verificar los procedimientos y protocolos de saneamiento.

## 3.2.3. Enterobacteriaceae

*Enterobacteriaceae* representan un grupo diverso de bacterias Gram-negativas, que incluye todas las bacterias coliformes. *Enterobacteriaceae* son bacilos oxidasa negativo, que no forman esporas, que fermentan la glucosa en ácido y/o gas de dióxido de carbono. Aunque el grupo *Enterobacteriaceae* incluye géneros conocidos como patógenos, como *Salmonella*, se considera un grupo de prueba de indicadores y no un método para monitorear la presencia de patógenos. Si se requiere información sobre la presencia o ausencia de un patógeno determinado, se aconseja realizar una prueba específica para ese organismo en lugar de confiar en las pruebas indicadoras.



Las pruebas de *Enterobacteriaceae* sirven para el mismo propósito que las pruebas de coliformes, ya que indican una limpieza inadecuada, condiciones insalubres o contaminación posterior al proceso.

De forma similar a los procedimientos de las pruebas de coliformes, las pruebas de *Enterobacteriaceae* tampoco detectarán todas las bacterias Gram-negativas, por ejemplo, la especie *Pseudomonas*.

## 3.3. Desarrollo de un programa de muestreo de indicadores

El desarrollo de un plan de muestreo de indicadores debe iniciarse bajo la dirección de una persona capacitada y con experiencia en indicadores microbiológicos, metodología de ensayo, metodología de muestreo, interpretación de resultados microbiológicos y con conocimiento del sistema de elaboración que se va a muestrear. Los puntos de muestreo, la frecuencia de muestreo y los tiempos de recolección deben determinarse en función de los riesgos y los calendarios de procesamiento. Una vez que el plan de muestreo esté completo, se debe coordinar la capacitación y documentación.

Los encargados de la toma de muestras y los revisores de datos siempre deben capacitarse antes de tomar las muestras

o analizar los datos de los programas de monitoreo ambiental. La capacitación debe incluir la técnica aséptica, la recolección adecuada de muestras en cada lugar, la garantía de que se toman muestras en el lugar correcto y la comprensión de las consideraciones de inocuidad para cada lugar. Los recolectores deben volver a la capacitación si hay incidencias o señales de cualquier manipulación o toma de muestras inadecuada. Además, se debe impartir una capacitación anual para asegurarse de que se mantenga la técnica y el muestreo adecuados año tras año. Para ver el modo en que cada operador recoge una muestra, lo ideal es que la capacitación y la evaluación de esta técnica sean prácticas, no solamente teóricas en un aula.

### 3.3.1. Selección de los puntos de muestreo

El primer paso al seleccionar los puntos de muestreo deber ser trazar un esquema del proceso de fabricación e identificar las etapas de procesamiento (por ejemplo, llenado, congelación, rebanado), las unidades funcionales (por ejemplo, las líneas de procesamiento, que normalmente consisten en múltiples piezas de equipo) y los equipos, señalando los materiales de construcción utilizados (por ejemplo, acero inoxidable, caucho, polietileno de alta densidad [HDPE, high-density polyethylene]). El esquema y los puntos de muestreo deben centrarse en la Zona 1 (superficies de contacto con el producto) y en la Zona 2 (superficies adyacentes a las superficies de contacto con el producto), ya que las pruebas de los indicadores en estas áreas proporcionan el mayor valor en términos de efectividad del saneamiento. El muestreo en proceso en los sitios de la Zona 1 también proporciona datos cuantificables que pueden utilizarse para

indicar una posible pérdida del control del proceso o condiciones que podrían dar lugar a la contaminación del producto. El muestreo en proceso de los sitios de la Zona 1 para los microorganismos indicadores también puede utilizarse para definir la duración adecuada de turnos entre lavados para las diferentes líneas y podría utilizarse para proporcionar apoyo científico para períodos extendidos de procesamiento sin interrupciones.

Además, las pruebas de indicadores en los sitios de las Zonas 1 y 2 representan un método complementario para monitorear el estado de los equipos y definir la frecuencia del mantenimiento preventivo o reparaciones. Por ejemplo, las tendencias hacia un mayor número de organismos indicadores en ciertos sitios pueden indicar la necesidad de reemplazar (más frecuentemente) las juntas u otras piezas de caucho y plástico.

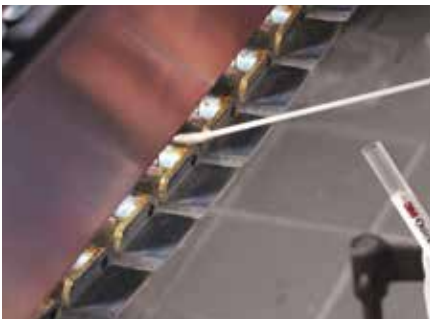
La incorporación de los sitios de la Zona 3 al plan de muestreo de indicadores puede ser valiosa durante las investigaciones o el análisis de las causas raíz, ya que es probable que esos sitios tengan niveles fluctuantes de las diferentes bacterias objetivo, lo que puede generar tendencias erráticas.

De manera similar a la selección de sitios para las pruebas de patógenos (consulte el Capítulo 4), los puntos de muestreo de indicadores deben seleccionarse con el propósito de detectar problemas potenciales en lugar de sitios que sean fáciles de limpiar y sanear o que siempre cumplan con los límites aceptables. Por ejemplo, las superficies grandes y planas de acero inoxidable suelen ser más fáciles de limpiar y descontaminar (y, por lo tanto, no suelen ser los mejores puntos de muestreo, sobre todo si son los únicos que se utilizan), mientras que una banda con revestimiento de tela es más difícil de

limpiar y descontaminar. El plan de muestreo debe incluir un sitio representativo de cada etapa de procesamiento, así como sitios que incluyan cada uno de los diferentes tipos de materiales que se usaron para construir el equipo.

Una vez que se seleccionen los sitios, también se debe elegir la herramienta apropiada para el muestreo de cada uno de ellos. Si el sitio es un hueco pequeño o una hendidura de difícil acceso, un hisopo puede ser la mejor opción. Para las zonas más grandes, lo mejor sería una esponja, ya que permite una recolección más eficaz gracias a una mayor acción mecánica. En las superficies planas y fáciles de limpiar en las que se desee un método de prueba de mayor sensibilidad (ya que se espera un recuento bajo), se puede utilizar el contacto directo del medio con la superficie (Figura 1).

**Figura 1.** Ejemplos de contacto directo y muestreo con hisopo utilizando las placas 3M™ Petrifilm™



### 3.3.2. Frecuencia de muestreo y número de muestras

La frecuencia de muestreo de los indicadores como parte de un programa de monitoreo ambiental (que normalmente se diseña como una actividad de verificación) debe basarse en el riesgo y tener en cuenta el tipo de producto que se elabora (listo para el consumo, listo para cocinar o crudo; actividad de agua alta o baja), el nivel de riesgo en cada etapa del proceso y otras consideraciones específicas del entorno de elaboración, como por ejemplo:

- Letalidad del procesamiento.
- Frecuencia de saneamiento.
- Características de las plantas.
- Potencial de contaminación cruzada.

La frecuencia del muestreo en proceso también se ve influida por la susceptibilidad microbiana del producto que se elabora, la carga microbiana de los ingredientes y la biota normal de los ingredientes.

Un enfoque de selección de muestras basado en el riesgo debe permitir probar solo una porción de todos los puntos de muestreo disponibles, pero aun así poder verificar el control del medio ambiente o los procedimientos de saneamiento.

Si se utiliza para verificar la eficacia del saneamiento, el muestreo debe llevarse a cabo después de cada ciclo de saneamiento y antes del inicio de la producción para analizar la tendencia de los resultados e identificar los problemas con anticipación. Si el equipo de producción es complejo o contiene zonas de difícil acceso, se recomienda tomar muestras mientras el equipo está en funcionamiento pero antes de iniciar el procesamiento de los alimentos. Esto puede significar que tal vez sea necesario

hacer funcionar algunos equipos (por ejemplo, las bandas transportadoras) durante un cierto período de tiempo (por ejemplo, 15 minutos) antes del muestreo. Esto aumentará la probabilidad de acceder a las poblaciones microbianas residuales que quedaron después del saneamiento.

También se debe aumentar el muestreo después de un resultado fuera de especificación, sobre todo para los coliformes y *Enterobacteriaceae*.

En esta sección se describen las consideraciones relativas a la frecuencia de muestreo de los programas de monitoreo ambiental de rutina (verificación) que utilizan pruebas de organismos indicadores. Sin embargo, las pruebas de microorganismos indicadores son también una herramienta esencial para la validación de los procedimientos de saneamiento, como piezas específicas de equipos de alto riesgo. Como se detalla en otros capítulos, la validación de la limpieza y el saneamiento puede incluir múltiples métodos de prueba (por ejemplo, pruebas de ATP, de organismos indicadores y posiblemente de patógenos).



### 3.3.3. Tendencia de datos, análisis y establecimiento de una referencia para los microorganismos indicadores

Los resultados cuantitativos que pueden obtenerse de las pruebas de organismos indicadores son especialmente útiles, ya que pueden analizarse más a fondo y utilizarse para determinar los niveles de referencia. El análisis de los datos debe realizarse periódicamente para identificar tendencias y problemas específicos que permitan introducir las reparaciones y medidas correctivas adecuadas. Por ejemplo, el análisis frecuente puede ayudar a identificar una tendencia al aumento del número de microorganismos indicadores, lo que puede permitir que las plantas tomen medidas antes de que se produzca una falla. El análisis a más largo plazo también puede favorecer la comprensión de los efectos de la estacionalidad e identificar oportunidades de mejoras operacionales y de los productos.

Los niveles de referencia representan lo que un programa de saneamiento puede ofrecer de forma consistente a través del proceso o de la planta y, por lo tanto, pueden utilizarse para exponer resultados que están fuera de especificación en cuanto a la efectividad del saneamiento. La referencia puede determinarse de varias maneras, incluida la recolección de muestras después de ciclos de saneamiento consecutivos en cada punto de prueba. Los resultados pueden entonces trazarse en un gráfico de control del proceso para establecer la referencia (Figura 2).

Es importante que los procedimientos operativos estándar (SOP, standard operating procedures) para la prueba de indicadores incluyan instrucciones específicas para el análisis de tendencias, incluida la frecuencia de revisiones formales de los datos de la prueba de indicadores.

**Figura 2.** Ejemplo del recuento de coliformes post saneamiento y nivel de referencia







### 3.3.4. Determinación de los niveles máximos para microorganismos indicadores

Se deben establecer límites aceptables de microorganismos indicadores para cada lugar de muestreo. Los límites pueden determinarse de varias formas, tales como el uso de niveles de referencia y el aprovechamiento de datos históricos.

Después del saneamiento, se esperan niveles bajos de microorganismos indicadores en las superficies. Un ejemplo

de orientación del Almond Board of California (Tabla 1) sugeriría lo siguiente como niveles apropiados y alcanzables con respecto a los microorganismos indicadores. La presencia o los niveles de organismos indicadores por encima del límite aceptable demuestran la existencia de condiciones que podrían conducir a la pérdida del control del proceso, lo que podría causar la contaminación del producto.

**Tabla 1.** Límites de indicadores microbiológicos recomendados para la limpieza de los equipos antes y después de la aplicación del desinfectante proporcionado por el Almond Board of California.<sup>4</sup>

Prueba cuantitativa de indicadores microbiológicos	Objetivo/ límites aceptables	Tratamiento post-calentamiento tomado antes del desinfectante (ufc/40 pulg <sup>2</sup> [250 cm <sup>2</sup> ])	Tratamiento post-calentamiento - preoperativo tomado después del desinfectante (ufc/40 pulg <sup>2</sup> [250 cm <sup>2</sup> ])
Recuento de aerobios en placa	Objetivo	<100	<10
	Aceptable	<500	<100
Coliformes	Objetivo	<10	<10
	Aceptable	<100	<50
Total de <i>Enterobacteriaceae</i>	Objetivo	<10	<10
	Aceptable	<100	<50

Las mejoras en el saneamiento, la reparación de los equipos y los cambios en los procesos pueden permitir la aplicación de una nueva línea de referencia y de límites aceptables más bajos.



## 3.4. Medidas correctivas basadas en los resultados de los microorganismos indicadores

La documentación sobre medidas correctivas debe incluir las medidas tomadas, los resultados de esas medidas, las fechas y las personas involucradas. Las desviaciones importantes deben ser causal de una reevaluación del plan y a una nueva capacitación para la toma de muestras. Una vez que se haya implementado la medida correctiva, a fin de garantizar la efectividad de esta, deberá realizarse un muestreo adicional en lugares estratégicos de la zona de la falla. Las medidas correctivas deben volver a aplicarse en los lugares o líneas donde se den condiciones o riesgos similares.

Es posible que las medidas correctivas no siempre sean consecuencia de una falla; también pueden ser una forma de mejorar

la calidad o de los procesos. El muestreo en proceso puede indicar efectos estacionales, una carga microbiana anormal de un ingrediente o un equipo que debe repararse.

Como ejemplo de medida correctiva derivada de un efecto estacional identificado, considere una situación en la que los recuentos en un determinado momento del proceso durante el invierno pueden tardar ocho horas de funcionamiento en alcanzar el punto en que se tenga que limpiar el equipo. Sin embargo, en el verano bastan cuatro horas para alcanzar el mismo nivel de biocarga en el mismo lugar. La mejora del proceso, en este caso, puede consistir en aumentar la frecuencia de la limpieza durante los meses de verano en esa línea de productos.

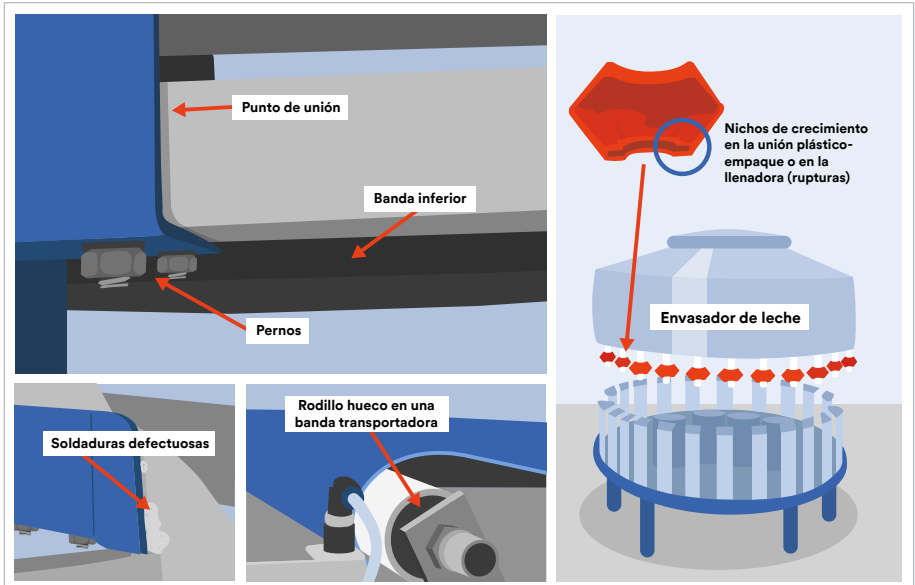
## 3.5. Identificación de las fuentes de microorganismos indicadores

Como se explicó anteriormente, los organismos indicadores suelen estar presentes en el ambiente de producción y, más ampliamente, en la naturaleza. Las fuentes habituales del organismo indicador son la contaminación cruzada procedente del exterior de la zona de producción o del agua (potable) de proceso. Es más probable que los microorganismos indicadores introducidos en las Zonas 1 y 2 provengan de ingredientes y materias primas. Al evaluar las fuentes de niveles elevados de microorganismos indicadores, también es importante tener en cuenta cualquier actividad atípica que pueda estar ocurriendo en la planta, como una construcción o la elaboración de nuevos productos en una línea adyacente. Las nuevas actividades, los equipos, los cambios en los productos químicos de saneamiento o en el personal también podrían contribuir al aumento de los recuentos de microorganismos indicadores.

Los aumentos esporádicos en los recuentos de organismos indicadores también podrían deberse a fallas en los equipos o a una limpieza inadecuada. Las fallas de los equipos podrían incluir grietas en las juntas o fracturas en las bandas transportadoras que crean un nicho de crecimiento o un sitio de refugio (Figura 3).

Además, si no se desmonta todo el equipo y la maquinaria para su limpieza periódica, o si existen zonas difíciles de limpiar, pueden formarse biopelículas que generen la contaminación del producto. Si bien estos problemas deben identificarse normalmente durante la validación de los procedimientos operativos estándar de limpieza y saneamiento, a veces pueden identificarse mediante un muestreo de verificación dirigido a los microorganismos indicadores.

**Figura 3.** Ejemplos de posibles nichos de crecimiento en los equipos



## 3.6. Resumen

Un programa sólido de monitoreo ambiental debe incluir pruebas para los microorganismos indicadores, especialmente post-saneamiento y en las superficies de las Zonas 1 y 2. Los microorganismos indicadores TPC, coliformes y *Enterobacteriaceae* pueden utilizarse para verificar la eficacia de las actividades de saneamiento y que las condiciones de operación de la planta están bajo control. La presencia de microorganismos indicadores no indica la presencia de un patógeno, pero si sus

niveles superan los límites aceptables definidos, esto puede indicar que las condiciones de limpieza y saneamiento o de operación son insuficientes. El uso de pruebas de indicadores puede funcionar como un sistema de alerta temprana para identificar y prevenir posibles problemas de contaminación del producto. Si los resultados superan los límites de control establecidos, se espera que las plantas tomen las medidas correctivas apropiadas y documenten las medidas tomadas y los resultados obtenidos.

Más información sobre las pruebas de microorganismos indicadores  
[www.3M.com/MicroIndicators](http://www.3M.com/MicroIndicators)

Comuníquese con un experto en inocuidad alimentaria de 3M  
[www.3M.com/Connect/MicroIndicators](http://www.3M.com/Connect/MicroIndicators)



## Referencias:

1. Chapin, T.K., Nightingale, K.K., Worobo, R.W., Wiedmann, M., Strawn, L.K. 2014. Geographical and Meteorological Factors Associated with Isolation of *Listeria* Species in New York State Produce Production and Natural Environments. *Journal of Food Protection*. 77: 1919-1928. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-132>
2. Downes, F. P., Ito, K., and American Public Health Association. 2001. *Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4th ed.)*. Washington, DC: American Public Health Association.
3. Martin N.H., Trmčić, A., Hsieh, T., Boor, K.J., Wiedmann, M. 2016. The Evolving Role of Coliforms As Indicators of Unhygienic Processing Conditions in Dairy Foods. *Front. Microbiol.* 7:1549. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5043024/pdf/fmicb-07-01549.pdf>
4. Almond Board of California Preventing *Salmonella* Recontamination: Pathogen Environmental Monitoring Program Guidance Document. <http://www.almonds.com/processors/processing-safe-product/pem>



## CAPÍTULO 4



# Monitoreo ambiental de patógenos

Por

**Martin Wiedmann** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell**Alexandra Belias** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell**Genevieve Sullivan** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell**Christian Blyth** | 3M Food Safety

4.1.	Propósito del monitoreo ambiental de patógenos	42
4.2.	Patógenos de interés y su importancia en el ambiente de procesamiento de alimentos	44
4.2.1.	<i>Listeria</i> y <i>Listeria monocytogenes</i>	45
4.2.2.	<i>Salmonella</i>	45
4.2.3.	<i>Cronobacter</i>	46
4.3.	Desarrollo de un programa de muestreo de patógenos para la verificación de las estrategias de control de patógenos ambientales	47
4.3.1.	Zonificación y selección de los puntos de muestreo	48
4.3.2.	Frecuencia de muestreo y número de muestras	50
4.4.	Medidas correctivas basadas en los resultados de las pruebas de patógenos	52
4.5.	Identificación de fuentes de patógenos y desarrollo de controles preventivos	53
4.6.	Enfoques avanzados de muestreo para controlar los patógenos alimentarios de transmisión ambiental	54



## 4.1. Propósito del monitoreo ambiental de patógenos

En términos generales, las empresas realizan un monitoreo ambiental de los patógenos alimentarios en las plantas de procesamiento y manipulación de alimentos para identificar y eliminar las fuentes ambientales de estos microorganismos, reduciendo así el riesgo de contaminación de los alimentos y el riesgo asociado al retiro de productos, intoxicaciones alimentarias y brotes de enfermedades. Así pues, se suele considerar que los programas de monitoreo ambiental de patógenos (PEM, Pathogen environmental monitoring) representan un enfoque proactivo de la inocuidad microbiana de los alimentos. Pueden identificar los problemas y las fuentes de patógenos antes de que provoquen la contaminación de los productos alimenticios terminados. Los programas de PEM cobran especial importancia debido a que la contaminación de los productos terminados por patógenos alimentarios tiene una frecuencia baja, lo que hace que las pruebas de productos terminados por sí solas sean una estrategia ineficaz para garantizar la inocuidad alimentaria.

Más concretamente, los programas de PEM se utilizan por lo general para: 1) verificar un sistema general de inocuidad alimentaria (o componentes específicos de un sistema de este tipo) y 2) proporcionar una indicación temprana de los posibles peligros para la inocuidad alimentaria.<sup>1</sup> Sin embargo, el análisis de muestras ambientales para detectar patógenos no suele ser un medio eficaz para validar las prácticas de inocuidad alimentaria, los programas de prerrequisitos y los "controles preventivos no relacionados con el proceso" (por ejemplo, los procedimientos operativos estándar de saneamiento [SSOP, Sanitation Standard Operating Procedures]). Esto se debe a que la ausencia de patógenos puede sugerir que una estrategia de control fue eficaz, cuando en realidad el patógeno objetivo simplemente no estaba presente, incluso antes de que se aplicara la estrategia de control (por ejemplo, el saneamiento).

La validación de los procedimientos de saneamiento y otras estrategias de control suele requerir el uso de múltiples enfoques de monitoreo ambiental, incluidas las pruebas de ATP, para validar la limpieza y los métodos de recuento total en placa (TPC) para validar el saneamiento. A menudo, el uso de estas pruebas se complementa con pruebas de patógenos para identificar sitios de refugio específicos que permitan el crecimiento o la supervivencia de los patógenos. El proceso utilizado para identificar sitios o nichos de refugio específicos (por ejemplo, como parte de la validación o de esfuerzos de tipo similar) se suele denominar técnica de "búsqueda y destrucción".<sup>2</sup>

Además de la validación y la verificación, las pruebas de muestras ambientales para detectar patógenos se utilizan para apoyar los esfuerzos de análisis de las causas fundamentales y verificar que las medidas correctivas tomadas son eficaces para abordar problemas específicos relacionados con los patógenos. Estas actividades pueden formar parte de investigaciones "con causa justificada" y "sin causa justificada".

Si bien los programas de PEM se utilizan con mayor frecuencia en las plantas de procesamiento que fabrican productos listos para el consumo (RTE, ready-to-eat), estos programas también se utilizan cada vez más en las plantas de empaque de productos, a menudo para ayudar con el control de *L. monocytogenes*. También pueden servir para verificar las estrategias de control de patógenos en otros establecimientos que manejan alimentos listos para el consumo, como las cocinas institucionales que atienden a poblaciones de alto riesgo.

Es importante señalar que hay una serie de documentos de orientación específicos para la industria y los productos para establecer y aplicar programas de PEM (especialmente para *Listeria*) que deben consultarse (Tabla 1). Estos documentos de orientación suelen ofrecer un nivel de detalle que excede considerablemente lo que se trata en este manual.



**Tabla 1.** Ejemplos de documentos de orientación para el establecimiento de programas de monitoreo ambiental de patógenos.

Título del documento	Organización	Industria objetivo	Patógeno objetivo
Dairy Pathogen Manual [Manual de patógenos lácteos] <sup>3</sup>	Dairy Food Safety Victoria (Australia)	Lácteos	<i>Salmonella</i> y <i>L. monocytogenes</i>
<i>Listeria monocytogenes</i> Guidance on Environmental Monitoring and Corrective Actions in At-Risk Foods [Listeria monocytogenes - Orientación sobre el monitoreo ambiental y las medidas correctivas en los alimentos de riesgo] <sup>4</sup>	Grocery Manufacturers Association	Alimentos listos para el consumo (RTE, Ready-to-eat)	<i>L. monocytogenes</i>
Control of <i>Listeria monocytogenes</i> in Ready-to-Eat Foods: Guidance for Industry [Control de Listeria monocytogenes en alimentos listos para el consumo: guía para la industria] <sup>5</sup>	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos	RTE	<i>L. monocytogenes</i>
Control of <i>Listeria monocytogenes</i> : Guidance for the U.S. Dairy Industry [Control de Listeria monocytogenes: guía para la industria láctea de EE. UU.] <sup>6</sup>	Innovation Center for U.S. Dairy	Lácteos	<i>L. monocytogenes</i>
Guidance on Environmental Monitoring and Control of <i>Listeria</i> for the Fresh Produce Industry [Guía de monitoreo y control ambiental de la listeria para la industria de productos agrícolas] <sup>7</sup>	United Fresh Produce Association	Productos agrícolas	<i>L. monocytogenes</i>
FSIS Compliance Guideline: Controlling <i>Listeria monocytogenes</i> in Post-lethality Exposed Ready-to-Eat Meat and Poultry Products [Control de Listeria monocytogenes en productos cárnicos y avícolas listos para el consumo expuestos luego de un proceso letal] <sup>8</sup>	Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos	RTE	<i>L. monocytogenes</i>

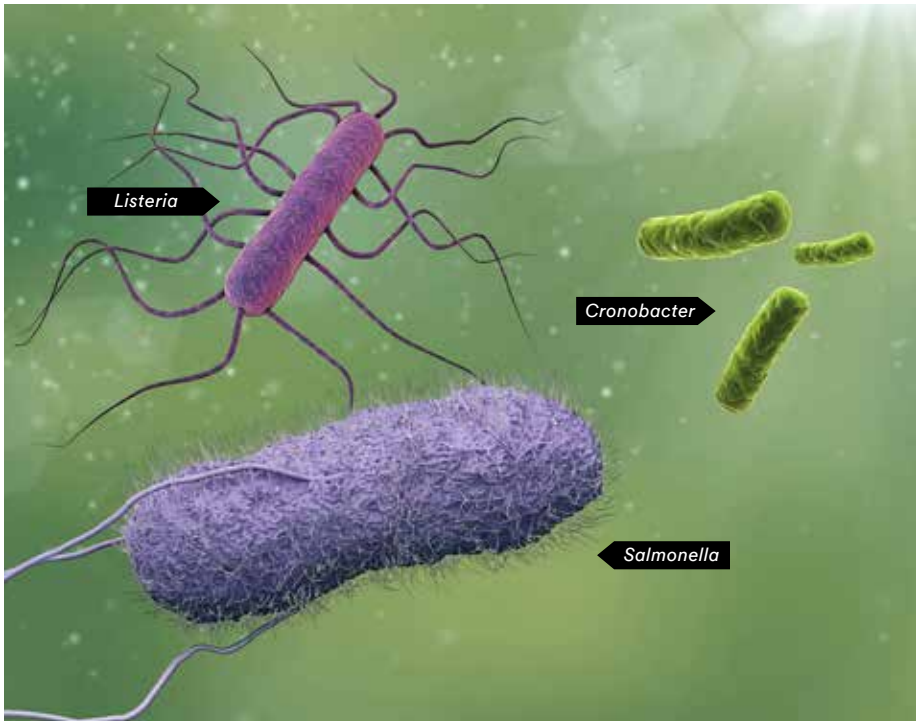


## 4.2. Patógenos de interés y su importancia en el ambiente de procesamiento de alimentos

Si bien el número de patógenos que causan enfermedades transmitidas por alimentos es considerable, solo hay unos pocos patógenos cuyas fuentes en los ambientes de elaboración y manipulación de alimentos se han vinculado a casos y brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos. Los patógenos clave a los que se dirigen los programas de MEP incluyen *L. monocytogenes*, y las pruebas suelen dirigirse a todas las especies de *Listeria* spp., en lugar de a las especies patógenas específicas de *L. monocytogenes* y *Salmonella*. Además, las fuentes ambientales de *Cronobacter* spp. son una

preocupación en la fabricación de leche en polvo para bebés.

Aunque no se trata con más detalle aquí, no se pueden excluir los ambientes de procesamiento de alimentos como fuente de otros patógenos alimentarios, incluidos los patógenos Gram-negativos de la familia *Enterobacteriaceae* (por ejemplo, *E. coli* patógena, como *E. coli* enterohemorrágica [EHEC]) e incluso la *Yersinia*. Por lo tanto, algunas plantas pueden incluir *E. coli* patógena como objetivo en sus programas de PEM.







### 4.2.1. *Listeria* y *Listeria monocytogenes*

*Listeria* es un género bacteriano que, desde 2016, comprende 17 especies. Recientemente se han descrito nueve especies de *Listeria* desde 2009.<sup>9</sup> Los datos genómicos y fenotípicos definen claramente un grupo distinto de seis especies (*Listeria sensu strictu*) que comparten características fenotípicas comunes (por ejemplo, la capacidad de sobrevivir a baja temperatura); este grupo incluye el patógeno humano *Listeria monocytogenes*. Las otras 11 especies (*Listeria sensu lato*) representan tres grupos distintos, que se ha propuesto que representen tres géneros diferentes que son distintos de la *Listeria sensu strictu*.<sup>9</sup> Las pruebas de *Listeria* casi siempre detectan todos los miembros de *Listeria sensu strictu*, pero no siempre detectan todos los tipos de *Listeria sensu lato*. Es importante seleccionar un método cuya capacidad para detectar estas especies ya se haya probado.<sup>10</sup>

Si bien *L. monocytogenes* es el patógeno de interés, los programas de PEM suelen hacer pruebas para *Listeria* spp., lo que significa que un resultado positivo de la prueba indica la presencia de una especie de *Listeria* que puede o no ser *L. monocytogenes*. Esta estrategia permite un enfoque más sensible para identificar (1) las condiciones que permiten la presencia o introducción de *L. monocytogenes* y (2) los sitios de refugio que podrían servir de apoyo

para *L. monocytogenes*. Sin embargo, un sitio que da positivo para la especie *Listeria* también podría ser positivo para *L. monocytogenes* y el seguimiento de cada muestra positiva para *Listeria* debe realizarse "como si el sitio fuera positivo para *L. monocytogenes*". Si se sigue este enfoque de manera consistente y apropiada, se obtiene un enfoque más sensible a la inocuidad alimentaria y al monitoreo ambiental que a las pruebas específicas para *L. monocytogenes*.

Sin embargo, hay situaciones específicas en las que puede ser apropiado realizar pruebas de muestras ambientales para encontrar específicamente *L. monocytogenes*, por ejemplo, en una investigación con causa justificada que se efectúa a raíz de un producto terminado que resulta positivo para *L. monocytogenes*. En este contexto, cabe destacar que los enfoques de prueba del producto terminado con respecto a la prueba para *Listeria* spp. o *L. monocytogenes* pueden diferir considerablemente según el país y la región. Por ejemplo, en los Estados Unidos, prácticamente siempre se realizan pruebas para *Listeria monocytogenes* y no para *Listeria* spp., ya que los organismos reglamentarios suelen esperar la especiación de *Listeria* spp. aislada de los productos RTE terminados. Sin embargo, en otros países, el enfoque más común puede ser la revisión de productos terminados en busca de *Listeria* spp.

### 4.2.2. *Salmonella*

El género *Salmonella* incluye dos especies, *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. Las pruebas de PEM en plantas donde se ha identificado a la *Salmonella* como un peligro con una probabilidad razonable de ocurrir a partir de fuentes ambientales prácticamente siempre se centrarán en la *Salmonella* spp., utilizando pruebas que detecten ambas especies.

Aunque clásicamente se puede pensar que la *Salmonella* es un patógeno de transmisión fecal, hay evidencia clara

de que el entorno de las plantas de elaboración y otros entornos relacionados con los alimentos pueden ser una fuente importante de *Salmonella*, en particular, aunque no exclusivamente, en entornos secos. Por ejemplo, se ha demostrado que la *Salmonella* persiste por lo menos 10 años en las plantas de elaboración de alimentos secos.<sup>11</sup> Por lo tanto, es importante identificar los sitios de refugio de *Salmonella* para ciertos tipos de plantas de alimentos RTE.



## Tenga en cuenta el criterio de pulgada cuadrada o cm<sup>2</sup>

Muchos materiales de capacitación e incluso documentos de orientación gubernamentales especifican un área determinada que debe ser objeto de muestreo cuando se realiza el monitoreo de patógenos ambientales. A menudo se mencionan áreas de 12 pulgadas por 12 pulgadas o de 30 centímetros por 30 centímetros.<sup>8</sup> Sin embargo, estas recomendaciones son complejas, ya que prácticamente todos los nichos potenciales de los que deben tomarse muestras como parte de un programa de monitoreo ambiental no son áreas cuadradas, ni siquiera planas. Piense en las patas o rodillos huecos de las mesas, las juntas de las paredes con el piso o las grietas que pueda haber en el suelo.

Por lo tanto, es importante proporcionar una capacitación sobre muestreo que haga hincapié en la necesidad de tomar muestras de posibles nichos en áreas irregulares, no solo en superficies planas. A veces una buena muestra puede ser de 600 centímetros (6 metros) de una junta del piso que tiene 0.5 centímetros de ancho. O a veces puede tener que ser cualquier superficie de una pata de mesa hueca a la que se pueda acceder para el muestreo.

## 4.2.3. *Cronobacter*

El género *Cronobacter* (antes *Enterobacter sakazakii*) se ha modificado en las últimas décadas debido a la continua investigación genotípica y fenotípica de diversas cepas que han ido apareciendo con el tiempo.<sup>12,13</sup> Se ha demostrado que las fuentes de *Cronobacter* son principalmente matrices vegetales (maíz, soja, trigo, arroz, hierbas, especias), así como leche en polvo y preparados en polvo para lactantes.<sup>14</sup> Las especies de *Cronobacter* son patógenos oportunistas y se ha descubierto que son la causa de enfermedades que ponen en peligro la vida de los recién nacidos, los bebés y personas mayores con el sistema inmunológico debilitado.

La contaminación de los preparados en polvo para lactantes ha sido la principal causa de infecciones en recién nacidos y lactantes, lo que ha dado lugar a muchos brotes en todo el mundo y al retiro del mercado de preparados en polvo para lactantes.<sup>15</sup> Además del producto terminado, se ha aislado *Cronobacter* en los entornos de las plantas de leche en polvo y de preparados en polvo para lactantes (incluidos los tambores de secado, las torres de secado y las bahías de los camiones cisterna) y se ha demostrado que persiste en esos ambientes durante largos períodos de tiempo debido a su resistencia a la desecación y a su capacidad para sobrevivir al secado por aspersión.<sup>14,16,17</sup> El monitoreo de *Cronobacter* en los entornos de las plantas de leche en polvo y de preparados en polvo para lactantes es fundamental para prevenir la contaminación del producto terminado. Debido a los cambios en la clasificación taxonómica, es especialmente importante seleccionar un método que detecte de manera fiable todas las especies de *Cronobacter*.<sup>18</sup>



## 4.3. Desarrollo de un programa de muestreo de patógenos para la verificación de las estrategias de control de patógenos ambientales

Esta sección se centrará en el desarrollo de programas de PEM que realicen la verificación de los sistemas de inocuidad. No abarcará las estrategias de muestreo para la validación de los programas de inocuidad alimentaria, los programas de requisitos previos y los controles preventivos no relacionados con el proceso (como los procedimientos de saneamiento), ya que esto implicaría normalmente una combinación de múltiples enfoques de prueba, incluidos ATP, TPC y, potencialmente, pruebas de patógenos. El desarrollo de un programa de PEM y los planes de muestreo asociados suponen múltiples pasos. En la Tabla 2 se detalla un posible marco de trabajo por pasos para ello; sin embargo, las plantas individuales deben, por lo general, refinar y ampliar este marco.

Cabe señalar que un desafío clave de los programas de PEM es que los detalles de la recolección de muestras, incluida la presión aplicada a una esponja y los lugares específicos analizados (por

ejemplo, una grieta en el suelo frente a una sección de suelo adyacente no agrietada) pueden tener un enorme impacto en la detección de patógenos. Por lo tanto, es importante diseñar el plan de muestreo y el programa general de PEM para evitar que, intencionadamente o no, se ofrezcan incentivos a los recolectores de muestras para que no recojan muestras que probablemente den positivo para los patógenos.

Por ejemplo, el establecimiento de objetivos numéricos o indicadores clave de desempeño para el porcentaje de muestras de PEM positivas puede llevar a que los recolectores de muestras no recojan muestras que probablemente arrojen resultados positivos. El objetivo de un programa de PEM consiste en encontrar y eliminar la contaminación por patógenos en el ambiente de procesamiento, y este objetivo no puede alcanzarse si existen incentivos en contra de la recolección de una muestra positiva.


**Tabla 2.** Pasos clave para el desarrollo de un programa de PEM

Pasos		Comentarios y sugerencias
1	Reunir al equipo de PEM	Debe ser un equipo interdisciplinario que, como mínimo, incluya la representación de las funciones de control de calidad, microbiología, saneamiento y administración de la planta.
2	Reunir la documentación e información necesaria para el desarrollo del programa de PEM	Incluye planos de planta, detalles sobre los equipos y su ubicación, resultados de PEM obtenidos previamente en la misma planta, otros programas ambientales ya implementados (por ejemplo, pruebas de ATP), y datos de validación para programas de inocuidad alimentaria (si están disponibles).
3	Identificar los requisitos regulatorios y de los clientes en materia de PEM (si los hubiera)	También debe incluir la identificación de los documentos de orientación de la industria y agentes regulatorios.
4	Acordar los parámetros clave del programa PEM	Incluye los organismos objetivo, los procedimientos de prueba, los puntos de muestreo, la frecuencia de muestreo, el número de muestras recolectadas por semana o por mes, la hora y el día del muestreo y el laboratorio de pruebas (laboratorio interno o externo).
5	Preparar la documentación escrita	Incluye un sistema de registro, procedimientos operativos estándar y una orientación por escrito para el seguimiento de los resultados positivos (medidas correctivas). Todas las tareas deben asignarse a personas específicas con un registro escrito de estas asignaciones.
6	Capacitar a los recolectores de muestras	Incluye los procedimientos operativos estándar de la capacitación, los registros de la capacitación y los resultados de las pruebas. La capacitación debe impartirse en una forma que sea fácilmente comprensible para todo el personal.
7	Programar una revisión periódica	La revisión periódica de los planes de muestreo, los resultados y las medidas correctivas debe realizarse cada 6 a 12 meses y debe incluir el equipo completo de PEM (Paso 1). Esto puede incluir un muestreo de PEM habitual (por ejemplo, anualmente) realizado por un grupo independiente o externo (por ejemplo, consultores o un equipo de inocuidad alimentaria de la empresa), que puede recolectar un conjunto amplio de muestras ambientales para evaluar si el plan de muestreo de rutina implementado es eficaz para detectar los patógenos objetivo.

### 4.3.1. Zonificación y selección de los puntos de muestreo

Durante el desarrollo de un plan de muestreo, prácticamente todos los programas de PEM utilizan el concepto de "zonas" de muestreo. En la mayoría de los países y regiones, los puntos de muestreo

en las plantas de procesamiento se asignan a una de cuatro zonas (vea la Figura 1), en las que la Zona 1 representa las superficies de contacto con los alimentos (es decir, las superficies con las que entra en contacto

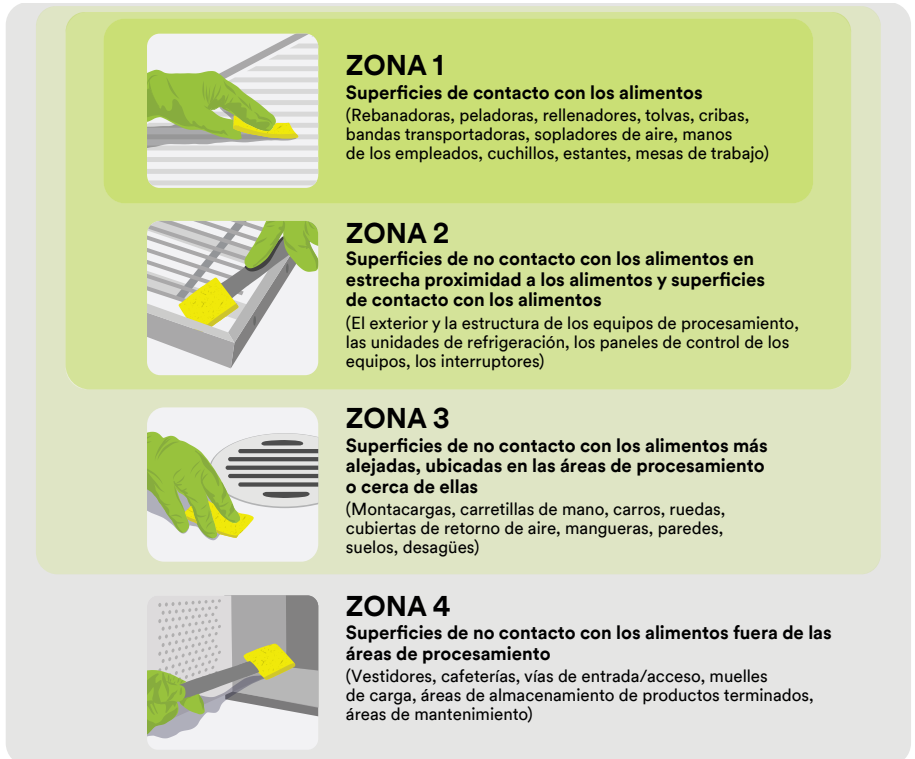


directamente un alimento RTE expuesto) y la Zona 4 representa las áreas fuera del área RTE (como vestidores, muelles de carga, etc.).<sup>3,5,7,19</sup> En algunos países, los puntos de muestreo pueden clasificarse en tres zonas. En este esquema, las Zonas 2 y 3 del esquema de "cuatro zonas" normalmente se combinan en una zona.

La asignación de los puntos de muestreo a las zonas no siempre es sencilla. Por ejemplo, las superficies situadas encima de los alimentos RTE expuestos, que muestran condensación que puede

caer sobre los alimentos expuestos, se considerarían típicamente Zona 1, pero pueden clasificarse en Zona 2 si la clasificación de la zona se realiza durante un período de baja humedad cuando no hay condensación visible y cuando el personal podría no estar consciente del potencial de condensación. Además, mientras que los desagües se clasifican por lo general en la Zona 3, los desagües que se encuentran inmediatamente debajo de las superficies de contacto con los alimentos pueden considerarse como sitios de la Zona 2.

**Figura 1.** Zonas de muestreo de monitoreo ambiental





Normalmente, uno de los primeros pasos en el diseño de un programa de PEM es seleccionar los posibles sitios de PEM. El resultado de este esfuerzo suele ser una lista maestra de puntos de muestreo con un identificador único para cada sitio de muestreo. Se deben incluir descripciones suficientemente detalladas para garantizar que el muestreo subsiguiente del mismo sitio se pueda reproducir y, preferiblemente, esta lista se crearía y mantendría en una base de datos apropiada que sea compatible con otras bases de datos, como los sistemas de gestión de la información de laboratorio (LIMS, Laboratory Information Management Systems). La selección de los puntos de muestreo suele implicar una visita guiada por el equipo de PEM (Tabla 2, Paso 1), para identificar los puntos de muestreo, incluidas las zonas difíciles de limpiar, los posibles nichos, los sitios de refugio, las zonas de alto tráfico y las vías que pueden facilitar el traslado de los patógenos en la planta.

Dado que el desmontaje de los equipos para permitir el muestreo de los sitios de refugio reales no es viable para el muestreo de verificación de rutina, las empresas pueden seleccionar en cambio puntos de muestreo representativos que sean contiguos o adyacentes a las zonas de potencial refugio. El muestreo de los sitios de refugio reales posterior al desmontaje suele realizarse para

el muestreo de validación o como parte de las misiones de búsqueda y destrucción provocadas por otros acontecimientos, como las muestras positivas encontradas mediante el muestreo de verificación.

A cada lugar de muestreo se le asignará una zona, y las definiciones de las zonas pueden diferir según el país, la región e incluso el organismo regulador. En cada plan de muestreo debe incluirse una definición escrita de lo que constituye una zona determinada. Cabe importante señalar que, si bien esta lista representa todos los posibles puntos de muestreo de verificación, ello no significa que se vayan a recolectar muestras de todos los lugares durante cada toma de muestras.

Por ejemplo, no sería inusual que una planta de procesamiento de alimentos de tamaño mediano tuviera una lista maestra de 400 a 500 sitios, pero que solo recogiera muestras de 40 a 50 de estos sitios por semana. Sin embargo, es importante que las personas encargadas de la recolección de muestras tengan la libertad de recolectar también por lo menos algunas muestras que no estén incluidas en la lista de puntos de muestreo, para que puedan tomar muestras de sitios de alto riesgo, como agua estancada, reflujos de desagüe o nuevas grietas en el suelo que puedan aparecer durante la recolección de muestras.

### 4.3.2. Frecuencia de muestreo y número de muestras

La orientación estándar sobre la frecuencia de muestreo y el número de muestras sugiere que ambos valores deben determinarse "en función del riesgo". Esta definición no suele ser muy útil, ya que hay pocos documentos de orientación, si es que hay alguno, que especifiquen cómo evaluar cuantitativamente el riesgo asociado a los patógenos ambientales. Por lo general, las plantas en las que los alimentos RTE están expuestos al entorno se considerarían de alto riesgo y requerirían, como mínimo, un muestreo semanal de los patógenos objetivo. Específicamente, *Listeria* sería un patógeno objetivo para el muestreo semanal de cualquier planta de ese tipo que produzca alimentos listos para el consumo que permitan la aparición de *Listeria* (por ejemplo, queso, leche líquida, carnes frías listas para el consumo, mariscos listos para

el consumo) o que produzca alimentos que se hayan vinculado a brotes de listeriosis, independientemente de que, por lo general, no permitirían su aparición (el helado es un buen ejemplo de este último caso).

La frecuencia de muestreo puede reducirse a una vez al mes (o menos, en casos excepcionales) si hay evidencia sustancial de que el riesgo de contaminación por *Listeria* es bajo. Por ejemplo, una planta muy pequeña que funcione menos de 3 o 4 días a la semana puede justificar una menor frecuencia de muestreo. Del mismo modo, las plantas que solo producen alimentos listos para el consumo que se someten a un tratamiento listericida en el envase y que no permiten la proliferación de *Listeria* pueden justificar un muestreo inferior al semanal.



*Salmonella* sería un patógeno objetivo para el muestreo semanal de cualquier planta que produzca alimentos RTE que estén expuestos al entorno de la planta de procesamiento y que en ocasiones anteriores se hayan vinculado a casos o brotes de salmonelosis, o eventos de contaminación que podrían estar asociados a fuentes en las plantas de procesamiento. Las plantas que normalmente tendrían que ejecutar planes de muestreo rigurosos de *Salmonella* que impliquen un muestreo semanal incluyen, entre otras, las que producen chocolate, cereales secos, productos lácteos en polvo y muchos otros productos alimenticios RTE de baja humedad.

De manera similar a la frecuencia de muestreo, hay muy pocas recomendaciones, si es que hay alguna,

sobre el número de muestras que deben tomarse como parte de los programas de PEM, aparte de que las determinaciones del número de muestras deben estar "basadas en el riesgo". Uno de los pocos documentos que proporcionan orientación sobre la frecuencia de muestreo es un informe sobre *Listeria* del Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA FSIS, United States Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service), que sugiere recolectar de 3 a 5 muestras de superficies de contacto con alimentos (Zona 1) por línea de producción por muestreo.<sup>8</sup> Esto podría oscilar entre una vez a la semana y una vez cada seis meses para plantas de muy bajo riesgo (Tabla 3), pero solo cubre la Zona 1 (superficies de contacto con alimentos).

**Tabla 3.** Descripción de la frecuencia de muestreo para las diferentes alternativas de plantas de procesamiento de alimentos clasificadas por la USDA FSIS<sup>8</sup>

Alternativas del USDA FSIS	Descripción de las alternativas	Tamaño de la clasificación del HACCP	Volumen de producción/día (libras)	Frecuencia mínima de las pruebas de superficie de contacto con alimentos (nota: se deben recolectar 3 a 5 muestras por línea)
Alternativa 1 (Alt. 1)	PLT y AMAP	n/a	n/a	2 veces/ año/ línea (cada 6 meses)
Alternativa 2, Opción 1 (Alt. 2a)	Solo PLT	n/a	n/a	4 veces/ año/ línea (trimestral)
Alternativa 2, Opción 2 (Alt. 2b)	Solo AMAP	n/a	n/a	4 veces/ año/ línea (trimestral)
Alternativa 3 (Alt. 3); ni fiambres o carnes frías ni salchichas para hotdogs	Solo saneamiento (ni PLT ni AMAP)	n/a	n/a	1 vez/ mes/ línea (mensual)
Alternativa 3 (Alt. 3); fiambres o hotdogs	Solo saneamiento (ni PLT ni AMAP)	Muy pequeño	1 – 6,000	1 vez/ mes/ línea (mensual)
		Pequeño	6,001 – 50,000	2 veces/mes/línea (cada 2 semanas)
		Grande	50,001 - >600,000	4 veces/ mes/ línea (semanal)

**Leyenda de la figura:** Tratamiento luego de un proceso letal (PLT, Post-lethality treatment): proceso que se utiliza para reducir o eliminar a *L. monocytogenes* en el producto; entre los ejemplos se incluyen la pasteurización y el procesamiento a alta presión. Agente o proceso antimicrobiano (AMAP, Antimicrobial agent or process): agente o proceso que se utiliza para limitar o suprimir la proliferación de *L. monocytogenes* en el producto.



## 4.4. Medidas correctivas basadas en los resultados de las pruebas de patógenos

Para un programa de verificación de rutina, que se describe aquí, es esencial que exista un plan y un esquema claro por escrito para las medidas correctivas. Estos planes deben incluir detalles sobre:

- El número mínimo de hisopos de vectores que se deben recolectar después de un positivo inicial, incluido un protocolo para determinar los procedimientos específicos de hisopado de vectores.
- Procedimientos de limpieza profunda que se utilizarán en el seguimiento de un resultado de prueba positivo.
- Procedimientos de análisis de la causa raíz que se utilizarán, incluidos los detalles sobre el personal que realizará estos análisis.
- Procedimientos que se utilizarán para convertir los resultados en un plan de medidas correctivas y preventivas (CAPA, corrective and preventive action), incluidos los requisitos para el cierre del CAPA.

Los sitios de los hisopos de vectores deben seleccionarse para representar las áreas y los sitios que podrían ser la fuente de los hallazgos positivos iniciales. Esto podría significar sitios de refugio potenciales cercanos, como las juntas de las paredes con el suelo, los desagües, las bandejas de goteo aéreas o los lugares de tráfico que se cruzan con el sitio positivo inicial al que el microorganismo podría haberse propagado.

Si el muestreo ambiental de rutina ("verificación") se utiliza para verificar un programa validado de inocuidad alimentaria, un programa de prerrequisitos o un control preventivo no relacionado con el proceso (por ejemplo, un conjunto de SSOP, procedimientos de saneamiento), el plan escrito debe incluir también detalles sobre los procedimientos que se utilizarán para la revalidación de los controles preventivos no relacionados con el proceso afectados.

### Pruebas de aire para detectar patógenos

Una pregunta frecuente es si deben realizarse pruebas de aire en busca de patógenos. A diferencia de lo que ocurre con las esporas de mohos, no hay evidencias de que las células vegetativas de patógenos bacterianos se transmitan por el aire en las plantas de procesamiento de alimentos. Sin embargo, los aerosoles (partículas de agua extremadamente finas y pequeñas suspendidas en el aire) pueden ser un vehículo muy eficaz para la transmisión de patógenos en las plantas de procesamiento. La confusión sobre el papel del aire frente a los aerosoles puede explicar por qué se plantean con frecuencia preguntas sobre la toma de muestras de aire para detectar patógenos.

En lugar de llevar a cabo pruebas de aire para identificar el papel de los aerosoles en la transmisión de patógenos en una planta de procesamiento, la realización de pruebas en las fuentes y áreas de deposición de los aerosoles sería una estrategia más apropiada para abordar esta inquietud. Además, la reducción al mínimo de la generación de aerosoles (por ejemplo, mediante la eliminación de las mangueras de alta presión en las plantas de elaboración y la reducción al mínimo del uso de agua durante el procesamiento) es esencial para disminuir la transmisión de patógenos en las plantas de procesamiento.

Otra fuente potencial de patógenos asociada al aire puede ser el aire a alta presión; las mangueras de aire pueden ser un nicho para los patógenos. Por lo tanto, se puede aconsejar la realización de pruebas al aire a alta presión en las plantas, en particular si se utiliza para limpiar las superficies de contacto con alimentos.





## 4.5. Identificación de fuentes de patógenos y desarrollo de controles preventivos

Una parte clave de un programa de PEM es identificar los sitios de refugio donde los patógenos de interés sobreviven y proliferan, a menudo porque están protegidos de los desinfectantes. El objetivo de la inocuidad alimentaria es identificar y eliminar los nichos de crecimiento (es decir, las zonas que favorecen el crecimiento general de las bacterias), así como los posibles sitios de refugio durante la validación de los procedimientos de saneamiento y antes de que se contaminen. Los programas de PEM de verificación de rutina confirman la efectividad de los procedimientos de saneamiento y otros controles preventivos que se han implementado.

El objetivo inicial del programa de PEM es identificar y eliminar los refugios dentro del área donde el producto es expuesto. Sin embargo, es posible que se pasen por alto nichos durante el proceso de validación (y las subsiguientes misiones de búsqueda y destrucción), ya que a veces solo se pueden identificar mediante un muestreo de verificación continua. Un ejemplo sería un nicho que no estaba presente en el momento del muestreo de validación, pero que se fue desarrollando con el tiempo. Además, las áreas que no representan inicialmente nichos y sitios de refugio potenciales pueden convertirse en nichos y sitios de refugio reales debido al desgaste de los equipos y de las piezas de estos, como las juntas.

Los programas de PEM de verificación bien diseñados e implementados pueden y deben detectar este tipo de problemas. Sin embargo, la detección de las fuentes reales de patógenos a veces puede verse obstaculizada si las actividades de seguimiento de un positivo inicial (por ejemplo, el hisopado de vectores, la limpieza profunda) no se ejecutan correctamente.

Por ejemplo, el uso excesivo de desinfectante (incluido el saneamiento del suelo) realizado inmediatamente antes de la toma de muestras del vector puede dar resultados negativos, cuando en realidad simplemente condujo a una situación en la que los patógenos persistentes, los microorganismos índice o los sitios de refugio quedaron cubiertos en lugar de eliminarse realmente. Este enfoque también podría dar lugar a situaciones en que una muestra positiva de un patógeno o microorganismo índice podría interpretarse erróneamente como un positivo esporádico, cuando en realidad era una prueba de la persistencia del patógeno. El seguimiento apropiado, bien planificado y ejecutado de cada muestra positiva de patógeno o microorganismo índice es, por lo tanto, esencial para la efectividad de los programas de MEP.



## 4.6. Enfoques avanzados de muestreo para controlar los patógenos alimentarios de transmisión ambiental

Como se detalla en este capítulo, los programas básicos de monitoreo de patógenos ambientales generan los datos necesarios para validar y verificar las estrategias de control de patógenos ambientales. Esto incluye el muestreo de investigación "con causa justificada" después de que las muestras de verificación den resultados positivos.

Las plantas de procesamiento de alimentos que cuentan con sólidas estrategias de muestreo de validación y verificación suelen desarrollar y aplicar estrategias de muestreo avanzadas. Estos métodos de muestreo permiten crear controles preventivos y otras estrategias que mejoran aún más la capacidad de esas plantas para prevenir los episodios de contaminación microbiana de fuentes ambientales. Por ejemplo, algunos procesadores de carne RTE de los Estados Unidos realizan un muestreo de "control del proceso", además de las actividades de muestreo de verificación y validación, con muestreo de validación usando el método de "búsqueda y destrucción" para encontrar y eliminar nichos y sitios de refugio (Figura 2).

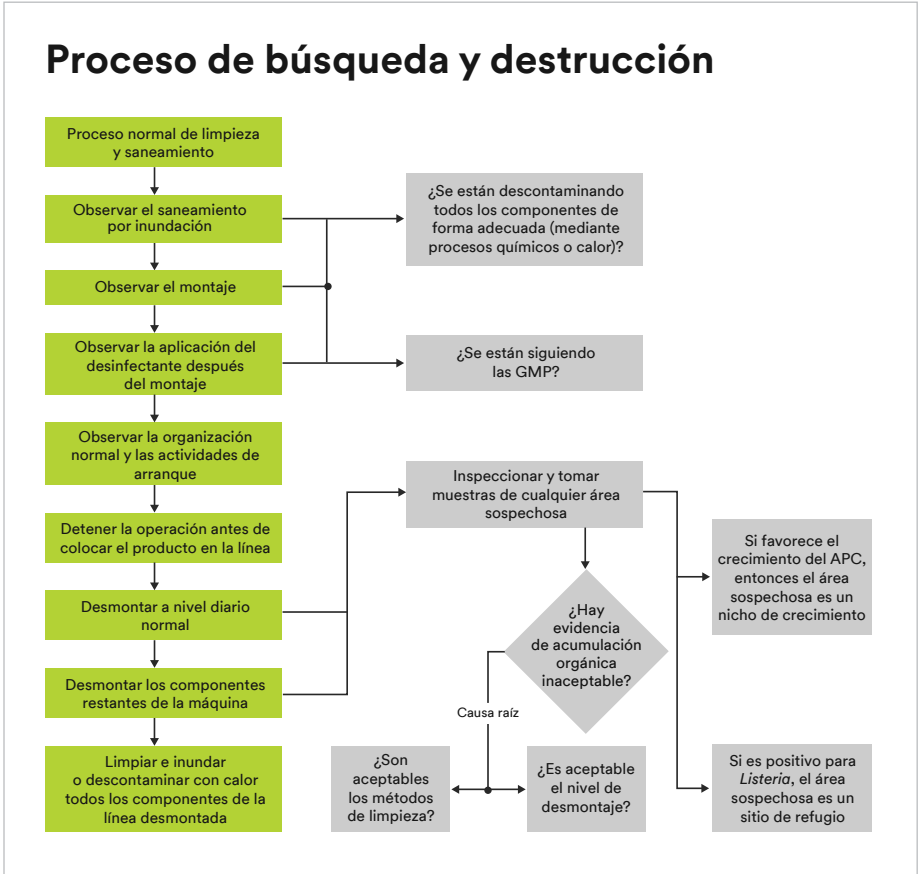
El muestreo de control de proceso utiliza "sitios indicadores" (que no deben confundirse con los microorganismos indicadores) para el muestreo, que son sitios de alerta temprana en los que la detección de patógenos no indica todavía un problema agudo de inocuidad alimentaria. Entre ellos figuran las áreas

de las plantas y los equipos con problemas de diseño sanitario, así como las vías de transferencia de la Zona 4 a la Zona 3, en las que se puede identificar la presencia o la entrada de un patógeno objetivo antes de que llegue a un sitio de muestreo de verificación. Los sitios indicadores suelen estar situados cerca de obstáculos y barreras para medir la efectividad del obstáculo, o en cercanía con un nicho de crecimiento para medir el nivel de control ejercido por el sistema de control del proceso de saneamiento. Además de la detección de patógenos, el muestreo del sitio del indicador también puede utilizar TPC, ATP y otros métodos de análisis.

El muestreo de investigación posterior a la detección de patógenos en un sitio indicador se consideraría "sin causa justificada", ya que se lleva a cabo como parte de un programa de control del proceso de saneamiento, pero no es necesariamente un componente de un programa de cumplimiento normativo. La aplicación de un muestreo del control del proceso que utiliza sitios indicadores proporciona a las plantas no solo un "sistema de alerta temprana", sino que también puede fomentar estrategias de prueba rigurosas, ya que los resultados positivos en un sitio indicador no necesariamente indicarían un fallo sistemático del sistema de inocuidad alimentaria que requiere un muestreo de investigación "con causa justificada".



Figura 2. Ejemplo del proceso de búsqueda y destrucción.<sup>2</sup>



Más información sobre las pruebas de patógenos  
[www.3M.com/PathogenTesting](http://www.3M.com/PathogenTesting)

Comuníquese con un experto en inocuidad alimentaria de 3M  
[www.3M.com/Connect/PathogenTesting](http://www.3M.com/Connect/PathogenTesting)



## Referencias:

1. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2015. Current Good Manufacturing Practice, Hazard Analysis, and Risk-Based Preventive Controls for Human Food; Final Rule. Verification of implementation and effectiveness. § 117.165. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FSMA/ucm334115.htm>
2. Malley, T.J., Butts, J., Wiedmann, M. 2015. Seek and destroy process: *Listeria monocytogenes* process controls in the ready-to-eat meat and poultry industry. J. Food Prot. 78 (2): 436-445. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-507>
3. Dairy Food Safety Victoria. 2016. Dairy Pathogen Manual. <http://www.dairysafe.vic.gov.au/publications-media/regulations-and-resources/guidelines>
4. Grocery Manufacturer's Association. 2014. *Listeria monocytogenes* Guidance on Environmental Monitoring and Corrective Actions in At-Risk Foods. <https://www.gmaonline.org/forms/store/ProductFormPublic/LEMP>
5. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2017. Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods: Guidance for Industry; Draft Guidance. <https://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm073110.htm>
6. Innovation Center for U.S. Dairy. 2015. Control of *Listeria monocytogenes*: Guidance for the U.S. Dairy Industry. <http://www.idfa.org/docs/default-source/resource-library/guidance-for-the-us-dairy-industry-10-19-15.pdf>
7. United Fresh Produce Association. 2013. Guidance on Environmental Monitoring and Control of *Listeria* for the Fresh Produce Industry. <http://www2.unitedfresh.org/forms/store/ProductFormPublic/guidance-on-environmental-monitoring-and-control-of-listeria-for-the-fresh-produce-industry>
8. Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. 2014. FSIS Compliance Guideline: Controlling *Listeria monocytogenes* in Post-lethality Exposed Ready-To-Eat Meat and Poultry Products. <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/d3373299-50e6-47d6-a577-e74a1e549fde/Controlling-Lm-RTE-Guideline.pdf?MOD=AJPERES>
9. Orsi, R., Wiedmann, M. 2016. Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. Appl. Microbiol. Biotechnol. 100: 5273-5287. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7552-2>
10. 3M Food Safety. 2018. 3M™ Molecular Detection Assay 2 – *Listeria* Performance Summary.
11. Centros para el Control y Prevención de Enfermedades. 2008. Multistate Outbreak of *Salmonella* Agona Infections Linked to Rice and Wheat Puff Cereal (ACTUALIZACIÓN FINAL). <https://www.cdc.gov/salmonella/2008/rice-wheat-puff-cereal-5-13-2008.html>



12. Joseph, S., Cetinkaya, E., Drahovska, H., Arturo Levican, A., Figueras, M.J., Forsythe, S.J. 2012. *Cronobacter* condimenti sp. nov., isolated from spiced meat, and *Cronobacter universalis* sp. nov., a species designation for *Cronobacter* sp. genomospecies 1, recovered from a leg infection, water and food ingredients. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62: 1277–1283. <http://dx.doi.org/10.1099/ij.s.0.032292-0>
13. Jackson, E.E., Masood, N., Ibrahim, K., Urvoy, N., Hariri, S., Forsythe, S.J. 2015. Description of *Siccibacter colletis* sp. nov., a novel species isolated from plant material, and emended description of *Siccibacter turicensis*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 65: 1335–1341. <https://dx.doi.org/10.1099/ij.s.0.000108>
14. Forsythe, S.J. 2018. Updates on the *Cronobacter* Genus. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 9:23–44. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012246>
15. Norberg, S., Stanton, C., Ross, R.P., Hill, C., Fitzgerald, G.F., Cotter, P.D. 2012. *Cronobacter* spp. in Powdered Infant Formula. *J. Food Prot.* 75: 607–620. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-11-285>
16. Craven, H.M., McAuley, C.M., Duffy, L.L., Fegan, N. 2010. Distribution, prevalence and persistence of *Cronobacter* (*Enterobacter sakazakii*) in the nonprocessing and processing environments of five milk powder factories. *J. Appl. Microbiol.* 109:1044–52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2010.04733.x>
17. Osaili T., Forsythe S. 2009. Desiccation resistance and persistence of *Cronobacter* species in infant formula. *Int. J. Food Microbiol.* 136:214–20. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.08.006>
18. 3M Food Safety. 2017. Evaluation of the 3M™ Molecular Detection Assay 2 – *Cronobacter* and Three Commercial Methods for the Detection of *Cronobacter* spp.
19. Simmons, C.K., Wiedmann, M. 2018. Identification and classification of sampling sites for pathogen environmental monitoring programs for *Listeria monocytogenes*: Results from an expert elicitation. *Food Microbiol.* 75: 2-17. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.07.005>





## CAPÍTULO 5

# Monitoreo ambiental de microorganismos deterioradores

Por

**Randy Worobo** | Departamento de Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell**Abigail Snyder** | Departamento de Extensión de la Universidad Estatal de Ohio  
**Cari Lingle** | 3M Food Safety

5.1.	Propósito del monitoreo ambiental de microorganismos deterioradores	60
5.2.	Los microorganismos deterioradores y su importancia en el ambiente de procesamiento de alimentos	60
5.2.1.	Hongos y levaduras	61
5.2.2.	Recuento total en placa	61
5.2.3.	Bacterias ácido lácticas	61
5.3.	Desarrollo de un programa de muestreo de microorganismos deterioradores	63
5.3.1.	Selección de los puntos de muestreo	64
5.3.2.	Frecuencia de muestreo y número de muestras	66
5.3.3.	Tendencias y análisis de datos de los microorganismos deterioradores	67
5.3.4.	Determinación de los niveles máximos para los microorganismos deterioradores	69
5.4.	Medidas correctivas basadas en los resultados de los microorganismos deterioradores	69
5.5.	Identificación de las fuentes de los microorganismos deterioradores	70
5.6.	Aspectos adicionales que se deben considerar	70



## 5.1. Propósito del monitoreo ambiental de microorganismos deterioradores

El monitoreo ambiental permite a las empresas adoptar un enfoque proactivo con respecto a la descomposición microbiana, en lugar de abordar las fallas de manera retrospectiva a medida que se producen. Esto es de especial importancia en los sistemas de gestión de la calidad, ya que los incidentes de descomposición suelen surgir esporádicamente y, sin mediciones de referencia coherentes, los problemas subyacentes o crónicos pueden pasar inadvertidos.

El monitoreo ambiental se utiliza a menudo como actividad de verificación de los regímenes de saneamiento, ya que el ambiente de procesamiento es uno de los principales factores que contribuyen a las fallas de calidad microbianas que los fabricantes tratan de controlar. Un saneamiento ambiental deficiente aumenta el riesgo de incidentes de descomposición microbiana no intencionados.

## 5.2. Los microorganismos deterioradores y su importancia en el ambiente de procesamiento de alimentos

Los ambientes de procesamiento de alimentos no son estériles, y los microorganismos que colonizan esos entornos suelen estar bien adaptados para utilizar el producto alimenticio manufacturado como sustrato para su proliferación. Esta adaptación aumenta el riesgo de descomposición si se produce una contaminación cruzada.

Además, los microbios deterioradores específicos de las plantas suelen adaptarse para resistir los controles de producción específicos de las plantas. Las bacterias y los hongos tolerantes al calor se aíslan con mayor frecuencia de los productos y plantas con procesos térmicos. Las levaduras resistentes a los conservadores se aíslan con mayor frecuencia de las plantas que utilizan tales conservadores. El uso a largo plazo de desinfectantes que no son de amplio espectro o las prácticas de limpieza deficientes también pueden dar lugar a niveles más altos de microorganismos deterioradores asociados a ambientes. El poder de la presión selectiva puede hacer que el entorno albergue microbios deterioradores problemáticos.

La descomposición microbiana puede causar una disminución de la vida útil, propiedades organolépticas inferiores y, en algunos casos, retiros de productos. Estos resultados tienen importantes consecuencias económicas y de percepción para los consumidores.

Determinados métodos de producción o tipos de productos están asociados con ciertos microorganismos de deterioradores. Las plantas deben considerar qué microorganismos deterioradores son más pertinentes, según estos parámetros, para determinar si es más apropiado el uso de una estrategia de monitoreo ambiental selectiva, que se centre en un tipo o clase específicos de microorganismos, o una estrategia de monitoreo ambiental más generalizada, que se base en microorganismos indicadores significativos sea más relevante. Por ejemplo, las plantas de llenado en caliente probablemente se ocuparán de mohos resistentes al calor como parte de su programa de monitoreo ambiental.

La resiliencia de los microorganismos deterioradores a los procesos de inactivación utilizados, la tolerancia de esos deterioradores a las condiciones de formulación y la afinidad de esos microorganismos a materias primas debe de ser evaluada en la identificación de microorganismos deterioradores específicos. Los microorganismos deterioradores pertinentes suelen agruparse mediante una combinación de taxonomía, función y métodos de detección. Los grupos que comúnmente se utilizan incluyen los hongos y levaduras, el recuento total en placa y las bacterias ácido lácticas.





## 5.2.1. Hongos y levaduras

Los hongos y levaduras, organismos eucarióticos de descomposición que son muy resistentes a muchos controles de procesamiento y formulación.<sup>1</sup> Según informes, los hongos y levaduras persisten y se propagan incluso en condiciones ambientales extremadamente duras.

Las levaduras, eucariotas unicelulares que se observan con estructura similar a las bacterias en una placa de Petri o bajo el microscopio, son resistentes a un pH bajo y están particularmente asociadas con la descomposición de alimentos de alta actividad acuosa y/o con alto contenido de azúcar, como los jugos pasteurizados, los jarabes, las frutas frescas cortadas y el yogur. La transmisión de las levaduras se produce a menudo a través de los alimentos, las bebidas o los vectores de

agua de procesamiento o limpieza, o debido a prácticas de saneamiento insuficientes.

Los hongos filamentosos (mohos) son resistentes a un pH bajo, a la actividad del agua, y algunos son extremadamente resistentes al calor. Se les asocia particularmente con productos estables o de vida útil extendida (ESL, extended shelf-life), aquellos alimentos que han sido procesados y formulados a fin de controlar otros microorganismos deterioradores de más rápido crecimiento. La transmisión de mohos se produce frecuentemente a través del aire debido al alto potencial de generación de aerosoles de las esporas, además de los otros mecanismos pertinentes a todos los microorganismos deterioradores.

## 5.2.2. Recuento total en placa

El recuento total en placa (TPC, Total Plate Count), o más exactamente, el recuento total de aerobios en placa, se refiere a todos los microorganismos cultivables recuperados en medios ricos y complejos en condiciones aeróbicas.<sup>1</sup> El TPC puede utilizarse como indicador de saneamiento general y para evaluar la carga microbiana total en el ambiente de procesamiento.

La detección mediante este método puede ser específicamente pertinente para los productos altamente perecederos sujetos a descomposición debido a un conjunto de diversos microorganismos

comensales, en lugar de los productos que soportan el crecimiento de solo unos pocos microorganismos deterioradores. Los resultados del TPC suelen estar dominados por la proliferación bacteriana, que supera a los hongos de crecimiento más lento.

Los diseños de ambientes de procesamiento que son sensibles a la contaminación ambiental también se pueden evaluar provechosamente con el TPC. Estos sistemas podrían incluir áreas de llenado, reservorios de agua en procesos de enfriamiento y nichos difíciles de limpiar en las líneas de producción.

## 5.2.3. Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido lácticas representan un conjunto diverso y funcional de bacterias que causan la descomposición de la carne fresca y los productos cárnicos, los productos listos para el consumo (RTE, ready-to-eat), como la fruta fresca cortada y los fiambres envasados en atmósfera modificada (MAP, modified atmosphere packed), la cerveza y el vino.<sup>1</sup> La descomposición se caracteriza por la presencia de metabolitos de

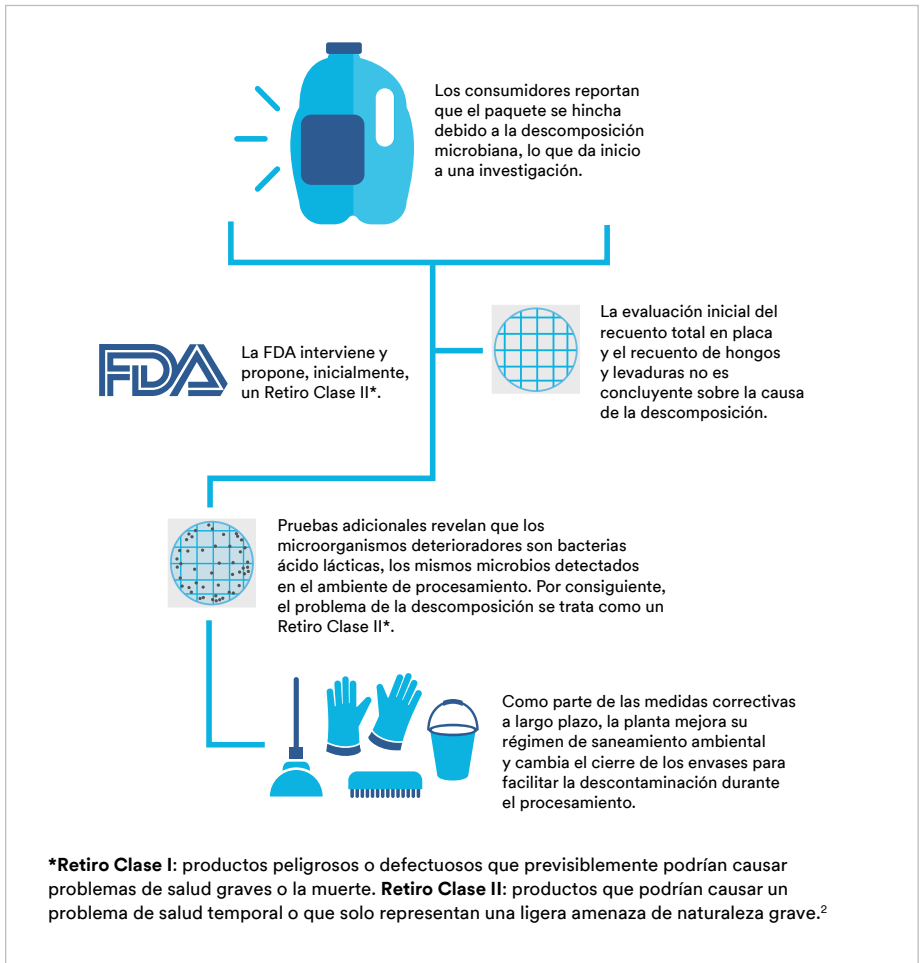
mal sabor que se producen durante el crecimiento microbiano, en particular el ácido láctico. Las bacterias ácido lácticas homofermentativas producen exclusivamente ácido láctico como subproducto de su actividad metabólica, mientras que las bacterias ácido lácticas heterofermentativas sintetizan de forma variable ácido láctico, ácido acético, dióxido de carbono y otros metabolitos organolépticos.



Las bacterias ácido lácticas son un reto importante para la industria cárnica, ya que la carne es un producto de alto valor y muy perecedero, que se asocia comúnmente con la descomposición por bacterias ácido lácticas. Por lo tanto, es una de las relaciones producto/descomposición mejor estudiadas y los defectos de calidad están bien caracterizados. La descomposición debido a la proliferación de las bacterias ácido lácticas puede reconocerse por los sabores y aromas desagradables, la

formación de películas viscosas (dextrano) y la hinchazón de los envases debido a la producción de dióxido de carbono por las cepas heterofermentativas. Las bacterias ácido lácticas se encuentran en todas partes; la contaminación proviene del ambiente y puede mitigarse a través de estrictas prácticas de saneamiento del entorno y de los utensilios, junto con el control de las condiciones de almacenamiento durante la vida útil.

**Figura 1.** Cronología del retiro de productos por descomposición de un fabricante hipotético de alimentos de EE. UU.





## 5.3. Desarrollo de un programa de muestreo de microorganismos deterioradores

Un programa reglamentario de monitoreo ambiental puede orientarse a las áreas problemáticas para reducir la descomposición a corto plazo, y permite realizar un seguimiento y analizar la tendencia para controlar las amenazas a la calidad a largo plazo. Esto sirve de apoyo para el análisis de causas raíz y puede ayudar a distinguir entre las fallas en las políticas y las fallas en la ejecución de las mismas. Los planes de muestreo deben estructurarse en torno a varios factores:

- Identificación de un objetivo microbiano apropiado.
- Selección de los puntos de muestreo.
- Determinación de la frecuencia del muestreo.
- Establecimiento de niveles máximos factibles y correcciones asociadas.

Los programas de muestreo deben ser viables para la planta, y las decisiones en torno a estos parámetros puede que necesariamente involucren a varios miembros del equipo de calidad de los alimentos.

Las plantas también deben considerar el método de detección más apropiado para el microorganismo de descomposición de interés. Las plantas que tienen como objetivo los mohos que producen esporas que se aerosolizan con facilidad pueden contemplar el uso de métodos de muestreo del aire para monitorear la carga de esporas.

La calidad microbiana del aire puede evaluarse mediante un muestreo cuantitativo del aire o con el método de sedimentación en placa. En la elaboración de un plan de monitoreo debe tenerse en cuenta tanto el lugar como el momento del muestreo. Las zonas de gran circulación de aire, de alta sensibilidad (es decir, con el producto expuesto) o de alta prevalencia microbiana (por ejemplo, el área de despaletización) son lugares adecuados para la toma de muestras del aire. El

monitoreo ambiental de las superficies se puede lograr mediante placas de recuento por contacto directo y placas de contacto indirecto a través del uso de esponjas.

**Figura 2:** Ejemplo de muestreo del aire mediante las placas 3M™ Petrifilm™



Las placas de recuento por contacto directo son un método que se puede aplicar rápida y fácilmente para detectar niveles bajos de microorganismos en superficies que no están en contacto con los alimentos. Sin embargo, si se requiere el muestreo de áreas de superficie más grandes, se recurre a las placas de contacto indirecto, utilizando hisopos o esponjas.

Este método permite un procesamiento adicional de la muestra. Por ejemplo, para seleccionar microorganismos deterioradores resistentes al calor, se puede aplicar un choque térmico a la muestra antes de usar la placa de contacto para reducir la microbiota de fondo. Además, este método permite el uso de placas de contacto en múltiples medios cuando hay varios objetivos microbianos de interés.



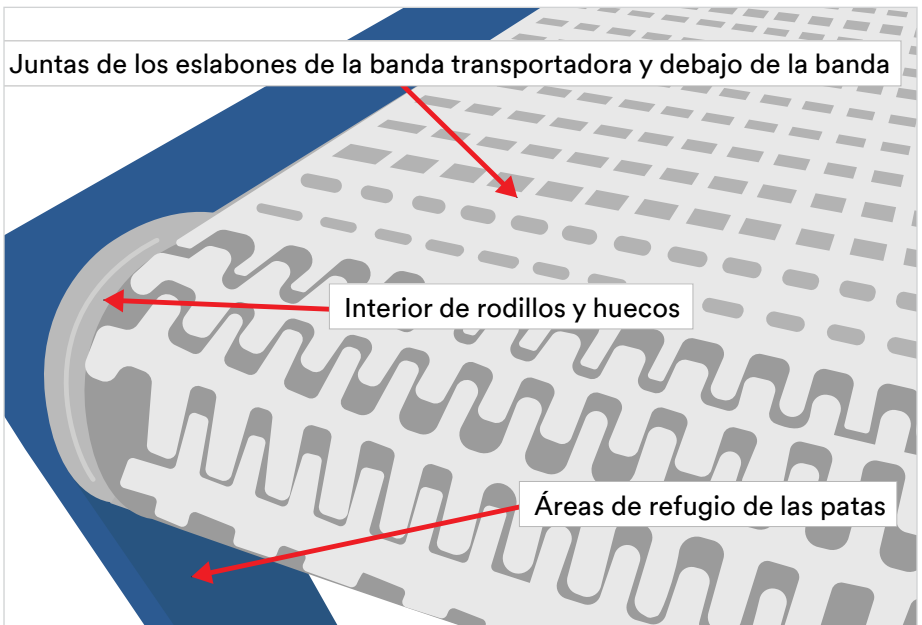
### 5.3.1. Selección de los puntos de muestreo

La selección de los puntos donde tomar las muestras dependerá de la finalidad del plan. Por ejemplo, un plan de monitoreo de organismos de microorganismos deterioradores puede servir como verificación de los procedimientos de saneamiento o también se puede plantear como una acción de "búsqueda y destrucción" de microorganismos deterioradores específicos en el ambiente. En ambos casos puede servir el mismo plan, pero el objetivo principal puede influir en aspectos del procedimiento.

Se debe elaborar una lista maestra de puntos de muestreo y, a partir de ese conjunto de lugares, se debe someter

a prueba un subconjunto por cada día del monitoreo. Si algunos puntos son particularmente problemáticos o indicativos de la eficacia del saneamiento, la planta puede optar por incorporarlos con mayor frecuencia en la rotación entre un subconjunto aleatorio. Se aconseja reevaluar periódicamente la lista maestra y buscar opiniones alternativas para agregar puntos de muestreo pertinentes a la lista. Además, se debe capacitar a los empleados sobre el lugar, específicamente, de los puntos de muestreo, según la descripción en el plan de muestreo. En la Figura 3 se muestra cómo se pueden identificar múltiples puntos de gran importancia en un mismo equipo.

**Figura 3.** Ejemplo de múltiples puntos de muestreo en un mismo equipo





En el caso de la verificación del saneamiento, esta se basaría en la selección de una variedad de puntos de muestreo cambiantes, junto con controles específicos de sitios difíciles de limpiar. Mientras que los enfoques de búsqueda y destrucción para eliminar microorganismos deterioradores específicos deben centrarse en los mecanismos de transmisión y las posibles fuentes asociadas con el organismo concreto, como se describió anteriormente.

En términos generales, el hisopado de áreas grandes, comparado con la investigación de nichos pequeños comúnmente muestreados en los programas específicos para *Listeria*, demuestra mejoría en la mejora del programa de monitoreo ambiental para la prevención del deterioro de los alimentos. Los hisopos ambientales pueden servir a un doble propósito ya que los microorganismos deterioradores y los patógenos, o sus indicadores, pueden detectarse a partir de una sola muestra. Sin embargo, en algunos casos, la selección del punto de muestreo puede variar entre los programas de monitoreo ambiental de patógenos y de microorganismos deterioradores en función de la zona seleccionada.

Para el control de los microorganismos deterioradores, las plantas pueden optar por dirigir la actividad de muestreo a superficies cada vez más distantes de la producción de alimentos, ya que contribuyen a la contaminación cruzada. Las superficies de la Zona 2, como las tuberías aéreas directamente sobre las superficies de contacto con los alimentos, las superficies de la Zona 3, como las aspas de los ventiladores y los depósitos de agua en sitios de refrigeración, y las superficies de la Zona 4, como los conductos de entrada de aire, representan áreas propensas a albergar microorganismos deterioradores problemáticos, dependiendo de las plantas.

Además, las superficies de la Zona 1 se incluyen fácilmente en un programa de monitoreo ambiental centrado en los microorganismos deterioradores, y los resultados pueden servir de base para intervenciones de saneamiento que también se refieren a la inocuidad. En la Tabla 1 figura una lista de las zonas problemáticas comunes en las plantas de procesamiento que surgen en las cuatro zonas.

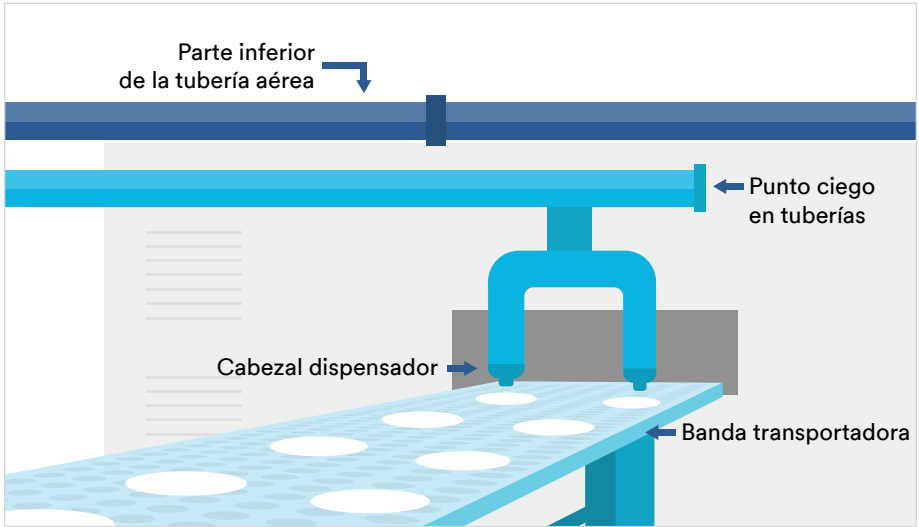
**Tabla 1.** Ejemplos de puntos de muestreo que suelen estar asociados con el refugio de microorganismos deterioradores

Punto	Amenaza para la calidad	Zona
Punto ciego en tuberías	La falta de flujo turbulento conduce a la acumulación y crecimiento de bacterias y levaduras que causan la descomposición.	1
Banda transportadora	Equipo complejo que puede entrar en contacto directo con el producto y que también puede incluir rodillos huecos, soldaduras rugosas y microfisuras. Además, el rociado excesivo por los empleados durante el saneamiento puede contaminar este equipo y contribuir a la contaminación cruzada.	1+
Depósitos de agua en zonas de refrigeración	El desarrollo de biopelículas contribuye a la contaminación posterior al procesamiento de productos llenados en caliente o procesos en retorta.	2
Aspas de ventiladores	La acumulación de esporas de hongos y partículas de polvo conduce a su circulación, a través de las corrientes de aire, en el entorno de producción.	3
Salidas de aire		
Sellos o juntas de refrigeradores	Sitio de refugio, particularmente asociado con el moho de la maquinaria, que es difícil de limpiar sin una atención dedicada en el programa maestro de saneamiento.	3



**Figura 4:** Ejemplo de puntos de muestra de microorganismos deterioradores en las Zonas 1 y 2

En el gráfico de abajo, un producto horneado sale de un horno en una banda transportadora, mientras se añade una cobertura con un dispensador. Por encima de la línea se encuentra una tubería aérea en la que se forma condensación durante la producción. Las flechas de la figura indican los posibles puntos de muestreo de los microorganismos deterioradores en esta zona de producción.



### 5.3.2. Frecuencia de muestreo y número de muestras

El número de muestras que se toma en cada día de monitoreo debe basarse en el tamaño y la complejidad de la planta, además de la viabilidad de la aplicación del programa. La frecuencia del muestreo debe evaluarse de acuerdo con el riesgo relativo de una falla de calidad, en caso de que se superen los niveles máximos preestablecidos.

Las plantas en las que los resultados del monitoreo ambiental revelen con frecuencia un saneamiento deficiente o sitios de refugio microbiano emergentes deben aumentar la frecuencia del muestreo. Esta misma evaluación de riesgos debe utilizarse para determinar la frecuencia con la que un equipo de inocuidad y calidad de los alimentos debe estudiar los resultados. La frecuencia del muestreo puede

establecerse, de manera alternativa, en relación con el momento en que se produce un evento de saneamiento o una actividad de procesamiento de alto riesgo, que puede requerir un monitoreo adicional para evitar desviaciones de calidad.

Dependiendo de la planta, puede que sea necesario ajustar el muestreo estacionalmente o como consecuencia de eventos intermitentes. Por ejemplo, la concentración de esporas de hongos en el aire aumenta durante la primavera y las fábricas sensibles a la descomposición por hongos en el paso de llenado pueden realizar los ajustes correspondientes. Por otra parte, las plantas envasadoras y las plantas que manejan múltiples SKU en líneas de procesamiento compartidas pueden considerar su programa de muestreo como



parte de una estrategia de mitigación para evitar la introducción de microorganismos deterioradores problemáticos, o sus sustratos de crecimiento, en los productos más sensibles.

En términos generales, puede utilizarse un hisopo por cada 1,000 pies cuadrados (aproximadamente 100 metros cuadrados) de espacio de procesamiento como

referencia para la gestión de la calidad, aunque más puede proporcionar mayor información. En la mayoría de los casos, la frecuencia de muestreo debe ser por lo menos mensual. Tanto la frecuencia como el número de puntos aumentan a medida que se incrementa el tamaño de la planta, el ritmo de producción, la antigüedad de la planta y los equipos y la aversión al riesgo de la amenaza para la calidad.

### 5.3.3. Tendencias y análisis de datos de los microorganismos deterioradores

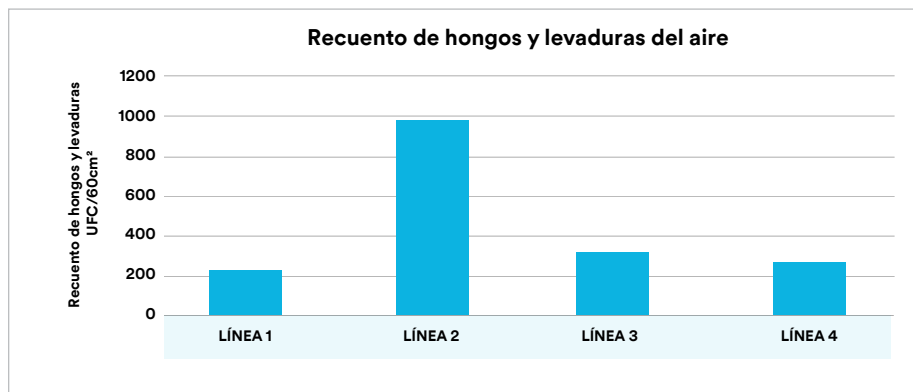
Diferentes métodos de visualización permiten al equipo de calidad de los alimentos abordar diferentes preguntas. A menudo resulta útil presentar los datos de monitoreo ambiental de un período prolongado en forma de gráfico, de modo que las tendencias y los patrones se hagan evidentes en comparación con la visualización en una hoja de cálculo o como una colección de informes de muestreo. La clasificación de los datos en función de la fecha, la ubicación o el

tipo de punto de muestreo puede abordar diversos problemas que pueden surgir en una planta de producción. Los fabricantes deben tomarse el tiempo necesario para analizar sus resultados a fin de aprovechar al máximo la implementación de un programa de monitoreo ambiental para detectar microorganismos deterioradores. Las Figuras 5a-c ilustran cómo una empresa puede elegir analizar sus datos de monitoreo ambiental.

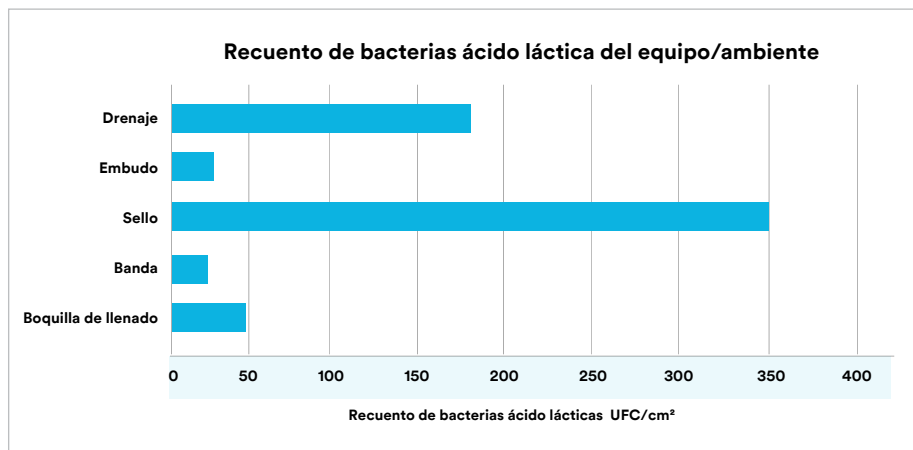
**Figura 5a.** Ejemplo de visualización de datos de monitoreo ambiental: Recuento total en placa



Este gráfico es una ilustración de los resultados del Recuento total en placa en un lugar en el transcurso de un año. Durante los meses de verano más cálidos (junio, julio, agosto), los conteos aumentan debido a la estación. A finales de noviembre, se puede observar un aumento significativo y agudo, lo cual es inusual para la temporada. Habría que realizar una investigación de la causa raíz para entender la causa de los resultados irregulares.

**Figura 5b.** Ejemplo de visualización de datos de monitoreo ambiental: Hongos y levaduras

Los recuentos de hongos y levaduras de las muestras de aire de múltiples lugares de una planta pueden monitorearse al comparar los recuentos uno al lado del otro mediante un gráfico de barras. En este ejemplo, los recuentos de la Línea 2 son más altos que los de los otros lugares, por lo que los alimentos que se producen en esta línea corren un mayor riesgo de contaminación por hongos y levaduras. Se pueden tomar medidas para mitigar el riesgo, determinando la fuente de hongos y levaduras, colocando equipos para proteger el producto de la contaminación o implementando un proceso para eliminar hongos y levaduras después de este punto de la producción.

**Figura 5c.** Ejemplo de visualización de datos de monitoreo ambiental: Bacterias ácido lácticas

En este gráfico, se han monitoreado los recuentos de bacterias ácido lácticas en varios lugares. Si un producto terminado está contaminado, esta información puede ser útil para iniciar la investigación para determinar la causa raíz de la falla. En este ejemplo, los recuentos de bacterias ácido lácticas en un sello son más altos de lo esperado y el sello debe revisarse para determinar si se trata de grietas o una limpieza inadecuada.





### 5.3.4. Determinación de los niveles máximos para los microorganismos deterioradores

Los niveles máximos o de corte son los estándares cuantitativos que delimitan los resultados aceptables para el programa de monitoreo ambiental, y se establecen mejor a través de la experiencia en la planta. A fin de tomar una decisión informada sobre los niveles adecuados, debe hacerse un seguimiento de los resultados del programa de monitoreo ambiental de una planta durante 10 a 20 rondas de monitoreo. Estos datos crean una referencia a partir de la cual se puede observar la variación normal y se pueden extrapolar los niveles máximos.

El método de referencia es particularmente adecuado para establecer los niveles máximos para los microorganismos indicadores y las evaluaciones microbianas cuantitativas. Por el contrario, los programas de monitoreo ambiental que se orientan a microorganismos deterioradores específicos con el objetivo de excluirlos totalmente del ambiente de procesamiento (por ejemplo, los mohos resistentes al calor) pueden optar por identificar la presencia de cualquier objetivo detectable lo suficiente como para iniciar una corrección.

Una planta puede optar por estratificar sus niveles máximos y correcciones, sobre la base del tipo de superficie en la cual se tomó la muestra. Por ejemplo, un TPC de referencia adecuado para un desagüe probablemente difiera del de una superficie de contacto con alimentos. El inicio de una respuesta correctiva debe ser apropiado para los resultados.

Los programas de monitoreo ambiental a menudo se vuelven costosos para las empresas cuando se ordenan niveles máximos ineficaces o medidas correctivas demasiado exigentes. Dado que los programas de monitoreo ambiental son en gran parte preventivos en lugar de reaccionarios, las tendencias sostenidas en la detección de microbios también pueden justificar una investigación. Como se dijo anteriormente, se esperan ligeras variaciones en los recuentos y en los cálculos de referencia guía, pero las plantas pueden preferir adoptar una política en la que una tendencia al alza de 5 a 10 eventos de muestreo consecutivos puede derivar en una corrección antes de alcanzar los niveles máximos permitidos.

## 5.4. Medidas correctivas basadas en los resultados de los microorganismos deterioradores

Cuando se superan los niveles máximos permitidos, deben iniciarse correcciones a corto plazo y medidas correctivas a largo plazo. Las correcciones inmediatas incluyen universalmente un paso de saneamiento, que o bien se centra en un lugar concreto o bien es una limpieza general profunda.

Se debe documentar un procedimiento que detalle los pasos y el enfoque de las prácticas de limpieza iniciadas después de superar los límites máximos establecidos de monitoreo ambiental, y se debe capacitar a los empleados responsables de la interpretación de los resultados del monitoreo ambiental y del inicio de las correcciones para que asuman estas responsabilidades. Muchas plantas

optan por incluir un paso de remuestreo en sus correcciones después de este procedimiento de saneamiento para verificar que el contaminante haya sido eliminado o reducido a un nivel aceptable. Se recomienda incluir este sitio, además, en el siguiente ciclo de monitoreo para determinar si se eliminó la fuente o la causa de la contaminación o si, por el contrario, el mismo lugar se vuelve a contaminar.

Las soluciones a largo plazo y el análisis de la causa raíz deben basarse en los datos de varios ciclos de observación, y pueden incluir una nueva capacitación de los empleados, la evaluación de los limpiadores y desinfectantes, la modificación de



los procedimientos de limpieza y desinfección o los programas de saneamiento y la implementación de los cambios pertinentes en la producción. Estas medidas correctivas pueden depender de la aversión al riesgo de la empresa y de la probabilidad de que se produzca un problema de descomposición después de las observaciones de monitoreo ambiental.

Tanto la probabilidad como la gravedad de la posible descomposición del producto deben utilizarse para determinar si es necesario reprocesar o destruir el producto terminado. Esto debe registrarse

en una política con el programa de monitoreo ambiental antes de que se produzca cualquier incumplimiento de los niveles máximos establecidos. Algunos establecimientos también optan por aumentar el número o la frecuencia de sus muestreos tras una violación de sus niveles máximos. Esto, en teoría, podría dirigir el saneamiento selectivo hacia la fuente de contaminación mediante la toma de muestras de vectores a partir de las pruebas de ATP, pero también aumenta el nivel de control que una planta tiene sobre el mantenimiento de un nivel sanitario aceptable en su entorno de producción.

## 5.5. Identificación de las fuentes de los microorganismos deterioradores

La identificación de las áreas de la planta de procesamiento contaminadas con microorganismos deterioradores es una estrategia útil de gestión de la calidad. Sin embargo, si no se elimina la fuente puntual, estos microorganismos pueden volver a introducirse de forma constante en el sistema. La detección continua de niveles problemáticos de microorganismos deterioradores en el mismo sitio puede indicar problemas subyacentes adicionales que no se están abordando mediante el saneamiento de rutina o especializado del lugar.

Las plantas deben considerar sus niveles de riesgo para la introducción de microorganismos deterioradores de diversas fuentes. Entre las fuentes comunes se encuentran las materias primas de

mala calidad, que pueden reintroducir continuamente microorganismos en el entorno durante cada ciclo de producción. La selección y el diseño de los equipos también pueden jugar en contra del sistema de monitoreo ambiental si permite la contaminación cruzada, o incluso si no logra descartar activamente los contaminantes. El aislamiento de las actividades, la antigüedad de los equipos y del edificio, y el grado de encierro de los procesos son todos factores que tienen un efecto en la microbiota ambiental y en la probabilidad de contaminación. Tenga en cuenta los resultados a largo plazo del programa de monitoreo ambiental para microorganismos deterioradores en la elaboración de programas de mantenimiento preventivo y de proveedores aprobados.

## 5.6. Aspectos adicionales que se deben considerar

El monitoreo ambiental de microorganismos deterioradores es de carácter diagnóstico y no debe considerarse un sistema independiente para el control. El análisis microbiano del agua de refrigeración, los ingredientes y el aire presurizado pueden ser importantes para respaldar los análisis de un programa de monitoreo ambiental. Las buenas prácticas de manufactura

(GMP, Good Manufacturing Practices) rigurosas también sirven para controlar la microbiota de descomposición. Sin embargo, el programa de monitoreo ambiental solo puede detectar violaciones de las GMP que contribuyan directamente a los cambios en la contaminación de la superficie o el aire, por lo que deben considerarse otras vías de contaminación.



La mejor estrategia para reducir al mínimo el riesgo de un incidente de descomposición es un esfuerzo concertado en un equipo multidisciplinario. Además, los datos de este programa pueden ser ampliamente benéficos ya que el equipo de inocuidad y calidad de los alimentos evalúa diversos sistemas. Un aumento en el potencial de descomposición puede ser una señal de problemas sistémicos que también se adelantan a posibles fallas futuras en la inocuidad alimentaria. Los sistemas de monitoreo ambiental que detectan microorganismos deterioradores respaldan respuestas proactivas, pero las empresas tienen que estar preparadas y contar con personal que tenga tiempo

suficiente para evaluar los resultados de estos programas para poder aprovechar las conclusiones.

Los empleados también deben considerar el impacto de las GMP en la microbiota de descomposición presente en la planta. La reevaluación del programa de monitoreo ambiental en sí debe realizarse cada 1 a 3 años. Los cambios en el sistema de procesamiento o en la formulación no solo pueden modificar el nivel de riesgo de descomposición, sino que también pueden afectar al tipo de microorganismos deterioradores relevantes para un fabricante determinado.

**Más información sobre las pruebas de microorganismos deterioradores**  
[www.3M.com/SpoilageDetection](http://www.3M.com/SpoilageDetection)

**Comuníquese con un experto en inocuidad alimentaria de 3M**  
[www.3M.com/Connect/SpoilageDetection](http://www.3M.com/Connect/SpoilageDetection)



## Referencias:

1. Downes, F. P., Ito, K., and American Public Health Association. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4th ed.). Washington, DC: American Public Health Association.
2. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2010. FDA 101: Product Recalls. <https://www.fda.gov/ForConsumers/ConsumerUpdates/ucm049070.htm>



## CAPÍTULO 6

# Monitoreo ambiental de alérgenos

Por

**Thomas Grace** | Bia Diagnostics**Ken Davenport** | 3M Food Safety**Gabriela López Velasco** | 3M Food Safety

6.1.	Propósito del monitoreo ambiental de alérgenos	74
6.2.	Los alérgenos y su importancia en el ambiente de procesamiento de alimentos	75
6.3.	Comparación de las pruebas de alérgenos específicos con las de alérgenos no específicos	76
6.4.	Desarrollo de un programa de muestreo de alérgenos	78
6.4.1.	Selección de los puntos de muestreo	78
6.4.2.	Frecuencia de muestreo y número de muestras	79
6.4.3.	Determinación de los niveles máximos para alérgenos	80
6.5.	Medidas correctivas basadas en los resultados de las pruebas de alérgenos	80
6.6.	Identificación de las fuentes de contaminación por alérgenos	81
6.7.	Aspectos adicionales que se deben considerar	81
6.8.	Resumen	83



## 6.1. Propósito del monitoreo ambiental de alérgenos

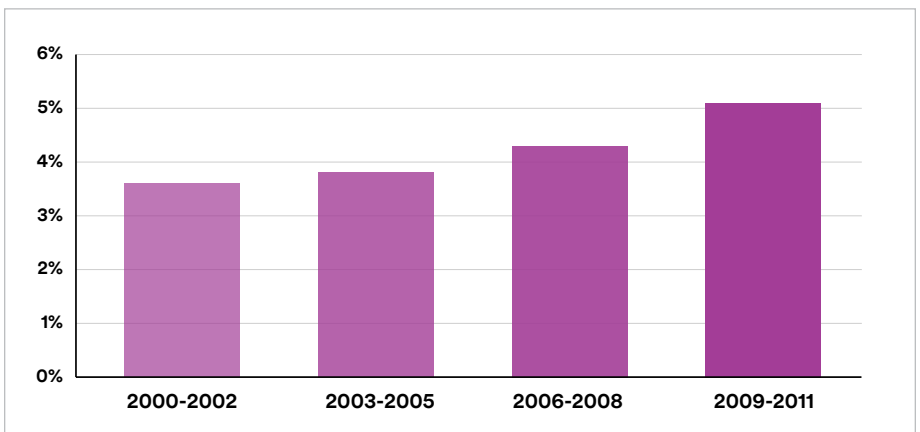
Los alérgenos alimentarios se han convertido en una preocupación cada vez mayor para los fabricantes de alimentos y bebidas. En 2004, se estimó que aproximadamente el 2% de los adultos y alrededor del 5% de los lactantes y niños pequeños de los Estados Unidos sufren cada año de alergias alimentarias (Figura 1).<sup>1</sup> Además, alrededor de 30,000 personas requieren tratamiento en salas de emergencias y 150 personas mueren anualmente debido a reacciones alérgicas a los alimentos.<sup>1</sup>

En los últimos años, el número de personas diagnosticadas con alergias alimentarias ha aumentado de manera notable, así como el número de visitas al hospital. Esto repercute directamente en los gastos de salud pública y en la pérdida de productividad.<sup>2,3</sup> Al mismo tiempo, los alérgenos que no se declaran en las etiquetas de los alimentos y las bebidas

han figurado sistemáticamente entre las principales causas de retiro de productos alimenticios en los Estados Unidos, lo que tiene un impacto mayúsculo en los fabricantes de alimentos.<sup>4</sup>

Si bien lo ideal sería contar con plantas dedicadas a la producción de alimentos con alérgenos y otras para alimentos sin alérgenos, la realidad es que alimentos que no deberían contener determinados alérgenos pueden fabricarse en las mismas plantas y, a menudo, con el mismo equipo que los alimentos que contienen alérgenos. Por consiguiente, un programa sólido de monitoreo ambiental tiene que contemplar medidas para la detección de alérgenos en los equipos de fabricación después de la limpieza y antes de la elaboración del siguiente producto. Además, se debe evaluar la presencia de alérgenos en el ambiente para evitar el contacto cruzado de los alimentos con alérgenos.<sup>5</sup>

**Figura 1.** Porcentaje de niños estadounidenses con alergias alimentarias a lo largo del tiempo





## 6.2. Los alérgenos y su importancia en el ambiente de procesamiento de alimentos

Los tipos de alimentos que pueden causar reacciones alérgicas son amplios y variados. Sin embargo, las fuentes más comunes se pueden agrupar en unas pocas categorías. Estas categorías no son coherentes entre los organismos regulatorios, lo que hace más compleja la clasificación (Tabla 1).

En algunos casos, la especificidad de las definiciones de una categoría puede determinar el número de alimentos incluidos en la lista. Por ejemplo, "mariscos"

es una categoría integral para Canadá. Sin embargo, en los Estados Unidos se subdivide en "peces" y "mariscos"; este último se divide a su vez en la Unión Europea (UE) como "crustáceos" y "moluscos".<sup>6</sup> Algunos países llegan incluso a definir familias específicas de peces o partes de los peces. En Japón, se recomienda que el pescado se etiquete específicamente como "caballa o verdel", "salmón", "huevas de salmón", etc.<sup>7</sup>

**Tabla 1.** Alimentos alergénicos regulados en los Estados Unidos, Canadá, Australia/ Nueva Zelanda y la Unión Europea<sup>1,6,7</sup>

Estados Unidos (los "8 Grandes")	Canadá (10 Alérgenos)	Australia/Nueva Zelanda (12 Alérgenos)	UE (14 Alérgenos)
Leche	Leche	Leche	Leche
Huevo	Huevo	Huevo	Huevo
Maní	Maní	Maní	Maní
Poroto o frijol de soya	Soya	Soya	Soya
Trigo	Trigo	Gluten (incluyendo trigo, cebada, centeno, etc.)	Gluten (incluyendo trigo, cebada, centeno, etc.)
Frutos secos	Frutos secos	Frutos secos	Frutos secos
Pescado	Mariscos	Mariscos (pescado)	Pescado
Mariscos crustáceos		Mariscos	Crustáceos Moluscos
	Mostaza	Mostaza	Mostaza
	Sésamo	Sésamo	Sésamo
	Sulfito*	Sulfito*	Sulfito*
		Lupino	Lupino
			Apio

\*No es un alérgeno, pero está regulado de manera similar puesto que algunas personas pueden presentar reacciones adversas.



La Ley de Modernización de la Inocuidad Alimentaria (FSMA, Food Safety Modernization Act) exige a los fabricantes de los Estados Unidos o que exportan a los Estados Unidos que incluyan controles de alérgenos en su plan de inocuidad alimentaria.<sup>8</sup> De igual modo, los diversos planes que se utilizan normalmente para el cumplimiento de la Iniciativa Mundial de Inocuidad Alimentaria (GFSI, Global Food Safety Initiative) también exigen la identificación y el monitoreo de los controles de alérgenos. Aunque no se exige de manera explícita en los planes de Análisis de peligros y puntos de control críticos (HACCP, Hazard Analysis and Critical Control Points), existe la expectativa implícita de que los alérgenos se identifiquen como peligros y de que se establezcan controles críticos para evitar la contaminación inadvertida de productos con alérgenos.

En las plantas y líneas de producción que fabrican tanto alimentos que contienen alérgenos como alimentos que no deben contenerlos, es fundamental tomar las medidas adecuadas para garantizar que no haya contacto cruzado entre los alimentos. En algunos casos, esto se puede manejar mediante la programación de las operaciones de fabricación para limitar el riesgo. Sin embargo, esto no elimina el posible riesgo de contaminación cruzada por sí solo, incluso con un programa de limpieza sólido.

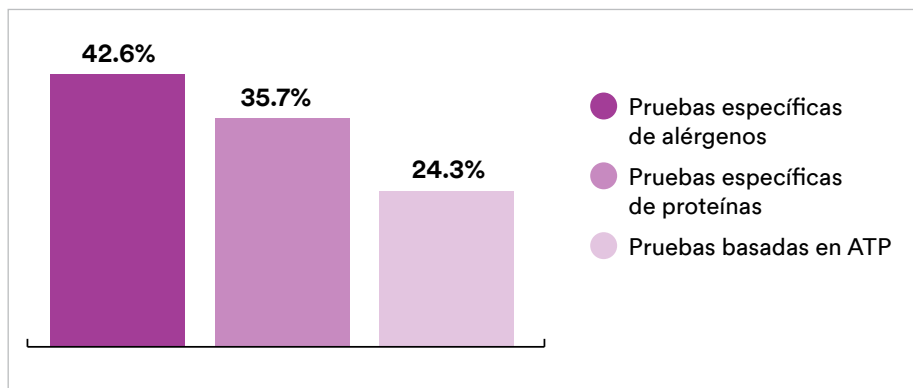
Debido a esto, se requiere el monitoreo ambiental tanto para la validación inicial del procedimiento de limpieza como para la verificación continua de que la limpieza se haya ejecutado de acuerdo con procedimientos por escrito.

### 6.3. Comparación de las pruebas de alérgenos específicos con las de alérgenos no específicos

Los fabricantes de alimentos utilizan diversos enfoques y pruebas como parte de un programa de alérgenos para la inocuidad alimentaria (Figura 2).<sup>5</sup> Hoy en día, el 30% de los fabricantes de alimentos y bebidas informan del uso de múltiples pruebas de alérgenos.<sup>5</sup>

Tradicionalmente, se han utilizado dos enfoques generales de pruebas de alérgenos para verificar la limpieza: pruebas de alérgenos específicos y no específicos.

**Figura 2.** Pruebas de alérgenos de los fabricantes de alimentos según el método<sup>5</sup>





Las pruebas de alérgenos específicos utilizan un enfoque de reconocimiento objetivo para detectar las proteínas dentro del alimento alergénico. Estas pruebas pueden utilizarse para identificar y/o cuantificar la cantidad de alimento alergénico que puede estar presente en una muestra. Por ejemplo, una planta que produce helado de mantequilla de maní y helado de vainilla debe asegurarse de que el helado de mantequilla de maní se elimine por completo del equipo de fabricación. Podrían utilizar una prueba basada en anticuerpos, como el dispositivo de flujo lateral (LFD, Lateral Flow Device) o el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) para detectar y/o cuantificar las proteínas del maní utilizando anticuerpos contra la proteína purificada.

Además, el procesamiento puede afectar al reconocimiento de las proteínas objetivo por los anticuerpos de la prueba. Por ejemplo, el tratamiento térmico de los alimentos (ya sea hervirlos, hornearlos, tostarlos, etc.) o incluso las temperaturas utilizadas durante la limpieza (por ejemplo, limpieza con vapor) pueden alterar la sensibilidad de la prueba a los residuos de alérgenos en el ambiente. Es importante asegurarse de que el ensayo seleccionado para el monitoreo ambiental sea capaz de detectar tanto los alérgenos no procesados térmicamente como los procesados térmicamente. Los usuarios deben tener especial cuidado con los alimentos que pasan por la fermentación (por ejemplo, la salsa de soja, la cerveza de trigo) o la digestión enzimática/química (por ejemplo, las proteínas hidrolizadas que se utilizan en algunos preparados para lactantes). Los procesos alimentarios en los que las proteínas pueden estar muy fragmentadas en pequeños péptidos podrían hacer que los alimentos alergénicos sean indetectables para las pruebas tradicionales de ELISA o de flujo lateral. Por esta razón, es importante que el método seleccionado utilizado para la verificación de la limpieza sea adecuado para el propósito y, por lo tanto, capaz de detectar los alérgenos de interés en el proceso de los usuarios.

El uso de una prueba de alérgenos basada en la aplicación de anticuerpos específicos tiene la ventaja de su alta especificidad. Si una prueba basada en anticuerpos da un resultado positivo con una prueba de gluten, por ejemplo, hay un alto grado de certeza de que la muestra de agua de superficie o

de enjuague está contaminada con gluten. Debido a esta selectividad, la iniciativa GFSI requiere pruebas de alérgenos específicos para la validación del proceso.

Si se diseña un proceso de limpieza para eliminar la leche del equipo de procesamiento antes de producir la leche de soja, entonces se necesita un ensayo ELISA o un dispositivo LFD específico para la leche a fin de validar la capacidad del proceso para eliminar la leche residual. Por lo general, esto se realiza mediante pruebas antes y después de la limpieza para mostrar, específicamente, que los residuos de leche se han eliminado efectivamente. Los métodos LFD y ELISA pueden ayudar a definir un sistema HACCP mediante la inspección del equipo de procesamiento y la búsqueda de los "puntos conflictivos". Esto puede revelar qué áreas (por ejemplo, las válvulas e interfaces de los equipos) necesitan un monitoreo futuro o deben optimizar los ciclos de limpieza en sitio (CIP).

Una vez finalizada la validación, las pruebas de rutina posteriores a la limpieza permiten a los usuarios verificar que los procedimientos de limpieza validados se están llevando a cabo con eficacia. Por ejemplo, los resultados que determinen que los residuos alergénicos se encuentran en niveles bajos o indetectables después de la limpieza de rutina durante un cambio de línea servirían como una verificación útil.

Si bien la mayoría de las empresas conocen el alérgeno específico que deben monitorear, la especificidad de los métodos de ELISA y LFD también representa un inconveniente cuando se trata de alimentos que contienen múltiples alérgenos. Por ejemplo, una línea de producción de aderezo para ensaladas que contenga huevo, leche, gluten y soja programada para producir a continuación una vinagreta sin ninguno de estos alérgenos requeriría la verificación de que los alérgenos se han eliminado mediante el uso de pruebas específicas para el huevo, la leche, el gluten y la soja. Es posible que se pueda elegir un solo alérgeno objetivo que sea representativo de los cuatro alérgenos y que pueda indicar que no quedan residuos del aderezo para ensalada anterior. En este caso, se podría elegir la concentración más alta de la matriz, por ejemplo, la leche, o el alérgeno más difícil de eliminar, por ejemplo, el huevo.



En estas situaciones, una prueba de alérgenos no específicos puede ser una alternativa a los métodos de ELISA y LFD. Las pruebas de alérgenos no específicos incluyen el ATP y los hisopos para detección de proteínas en superficies. Aunque el ATP no mide directamente los alérgenos, tiene sentido que si una superficie se limpia suficientemente bien como para eliminar el ATP a un nivel bajo, entonces la limpieza ha sido adecuada para eliminar los alérgenos.

Dicho esto, se sabe que la solubilidad del ATP, una pequeña molécula de carga negativa, puede ser muy diferente de las proteínas alergénicas de los alimentos que pueden ser horneados en la superficie. Además, algunas fuentes de alimentos alergénicos como la clara de huevo tienen niveles bajos de ATP, lo que hace que el ATP sea un mal sustituto para la eliminación de estas proteínas alergénicas. Por esta razón, los hisopos para detección de proteínas altamente sensibles ofrecen una evaluación directa del éxito de la eliminación de las proteínas alergénicas de una superficie durante la limpieza.

La razón es que si las proteínas se han eliminado hasta un nivel indetectable (por ejemplo, menos de 3 microgramos por 100 centímetros cuadrados), entonces las proteínas alergénicas también se han eliminado hasta un nivel muy bajo. En situaciones con múltiples alérgenos, como en el ejemplo del aderezo para ensaladas, si se determina que hay menos de 3 microgramos de proteína total, esto demuestra directamente que hay menos de 3 microgramos de proteína de cualquiera de las fuentes de alimentos alergénicos en una sola prueba.

En última instancia, la elección de utilizar una prueba específica para el alérgeno o una prueba no específica depende de muchos factores. Entre ellos figuran la diferencia en el número y el tipo de alérgenos en los productos elaborados en la misma zona o línea de producción, el tiempo necesario para la prueba, la necesidad de resultados cuantitativos, la relativa aptitud técnica del operador y los requisitos de los clientes para los que se fabrican los productos.

## 6.4. Desarrollo de un programa de muestreo de alérgenos

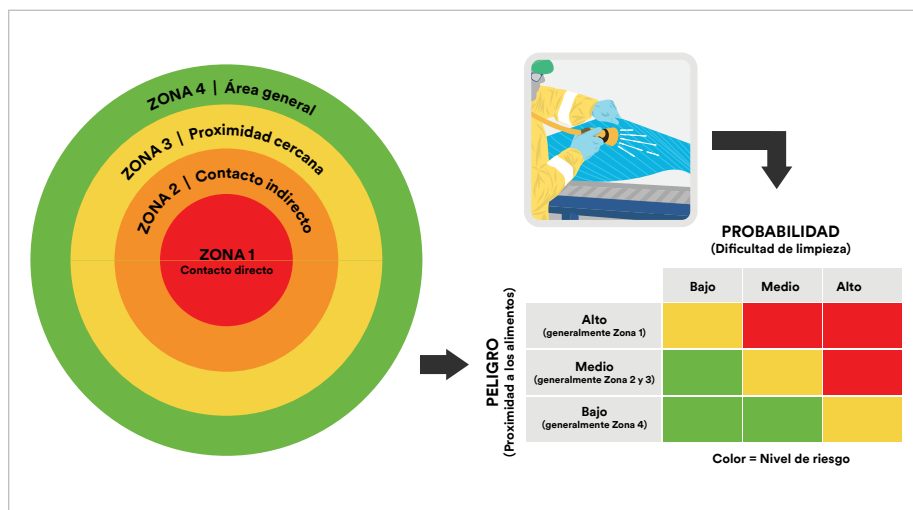
### 6.4.1. Selección de los puntos de muestreo

La selección de los puntos de muestreo imita el mismo proceso que se utiliza para las pruebas de ATP y las pruebas de indicadores microbianos. Aunque la mayor parte de las pruebas para alérgenos deben centrarse en la verificación inmediata posterior a la limpieza de los puntos de prueba de las Zonas 1 y 2 antes de la puesta en marcha de la línea de producción, también resulta útil ejecutar pruebas periódicas de todas las zonas de muestreo

ambiental para identificar las áreas de acumulación de polvo, líquido y otros residuos que puedan ocasionar un contacto cruzado. Para verificar la limpieza, se debe utilizar un enfoque basado en el riesgo que tenga en cuenta tanto el impacto sobre los alimentos, en caso de que una superficie se contamine (el peligro), como el nivel de dificultad para conseguir que la superficie se limpie adecuadamente (la probabilidad) (Figura 3).



**Figura 3.** Identificación de las áreas de alto riesgo de las pruebas de alérgenos



## 6.4.2. Frecuencia de muestreo y número de muestras

Las áreas con contacto directo con alimentos (Zona 1) y con un contacto indirecto muy cercano (Zona 2), que se consideran difíciles de limpiar, deben ser prioritarias para las pruebas más frecuentes. Aquellas áreas que están lejos de los alimentos (Zonas 3 y 4) o son muy fáciles de limpiar (superficies lisas y planas de fácil acceso) deben tener una prioridad más baja.

En las áreas de alto riesgo (rojo, en la Figura 3) deben realizarse pruebas cada vez que se limpie la línea o tal vez con una frecuencia alta, como una vez por semana. En las áreas de riesgo moderado (amarillo) se pueden llevar a cabo las pruebas con una frecuencia más baja, de una vez por semana a una vez por mes. En las áreas de bajo riesgo (verde), las pruebas deben tener una frecuencia baja, probablemente de una vez al mes o una vez cada trimestre.

Al modificar la frecuencia de las pruebas en función de la evaluación del riesgo, los fabricantes de alimentos y bebidas pueden asegurarse de obtener la mayor reducción de riesgo para los recursos que se dedican a las pruebas.

El número de muestras depende tanto de la complejidad del equipo/línea de fabricación como de las consideraciones prácticas para el presupuesto de las pruebas. Para una línea de prueba estándar, se deben realizar pruebas en 5 a 10 puntos por línea para obtener una cobertura suficiente a fin de reducir sustancialmente el riesgo de una mala limpieza no detectada. Sin embargo, el número exacto queda a discreción del equipo de calidad, y las razones se deben planificar y documentar en el plan de inocuidad alimentaria de la planta o en el plan de HACCP.



### 6.4.3. Determinación de los niveles máximos para alérgenos

El tema de los umbrales de los alérgenos ha sido objeto de debate en la última década con solo algunos puntos de resolución.

Al parecer, los niveles generalmente aceptados para los umbrales de gluten en el producto terminado son de menos de 20 partes por millón (20 ppm o 20 µg/g).<sup>9</sup> Ciertos grupos de interés especial para las comunidades celíacas y sensibles al gluten abogan por umbrales más bajos (5 a 10 ppm) que los que exige la norma. Otros alimentos alergénicos tienen menos claridad, ya que está surgiendo un mosaico de umbrales a partir de la iniciativa de Etiquetado voluntario de la presencia accidental de trazas de alérgenos (VITAL, Voluntary Incidental Trace Allergen Labelling) en Australia, la UE, Japón y otros reglamentos nacionales o regionales.<sup>10</sup>

Si bien en la actualidad hay poco consenso sobre los umbrales para los alimentos terminados, hay aún menos sobre lo que es aceptable en los equipos y las muestras ambientales. Esto se ve doblemente agravado por el hecho de que las unidades de medida de la concentración de los alimentos (ppm) se aplican incorrectamente a superficies en las que las unidades de medida de peso

o volumen de peso no tienen ningún significado. Históricamente, puede que esto se haya debido al uso de métodos ELISA que arrojan resultados en ppm para analizar muestras ambientales. Independientemente de la fuente, esto ha generado una confusión adicional en el mercado, ya que incluso algunos organismos de normalización han discutido la aplicación de 5 ppm como umbral para las muestras ambientales.

Dicho esto, la opinión actual de los expertos del Programa de Investigación y Recursos sobre Alergias Alimentarias (FARRP, Food Allergy Research and Resource Program) es que un resultado de aprobación con un kit ELISA debería estar por debajo del límite de cuantificación (LOQ [limit of quantification] - para la mayoría de los kits 2,5-5 ppm(µg/g), o posiblemente equivalente a 1.25-2.5 µg/100 cm<sup>2</sup>, dependiendo del protocolo de extracción de hisopos) para reducir de manera eficaz el riesgo para el consumidor final.<sup>11</sup> Esto representa un enfoque muy práctico para establecer umbrales ambientales para los sistemas de prueba, a pesar de la falta de claridad de los organismos reguladores.

## 6.5. Medidas correctivas basadas en los resultados de las pruebas de alérgenos

Las medidas correctivas inmediatas que deben tomarse cuando una prueba de alérgenos de los programas de monitoreo ambiental está por encima del umbral dependen del nivel de riesgo de la muestra, como se determina en la Figura 3.

- Las muestras de alto riesgo (rojo) que dan positivo requieren una nueva limpieza del equipo y una nueva prueba antes de despejar la línea para la producción.
- Las muestras de riesgo moderado (amarillo) pueden recibir un poco más de atención, dependiendo del tipo de producto elaborado. Lo ideal sería volver a limpiar el área antes de la producción, aunque un monitoreo más estricto y/o una limpieza profunda del área en el futuro también podría ser una respuesta aceptable.
- Los positivos de bajo riesgo (verde) deben programarse para una limpieza adicional en una próxima fecha, seguida de pruebas posteriores a la limpieza.



Las medidas correctivas a largo plazo deben incluir el análisis de la causa raíz para determinar la fuente de la contaminación por alérgenos o la causa de la falla en el procedimiento de limpieza. Las medidas correctivas adicionales a largo plazo podrían incluir:

- Cambiar la frecuencia de la limpieza.
- Revalidar el procedimiento de limpieza.

- Cambiar el proceso de limpieza para eliminar la variabilidad o aumentar la efectividad.
- Evaluar los equipos para su actualización o reemplazo.
- Actualizar el diseño de la planta para mejorar la limpieza.
- Mejorar la segregación de materias primas/ingredientes.

## 6.6. Identificación de las fuentes de contaminación por alérgenos

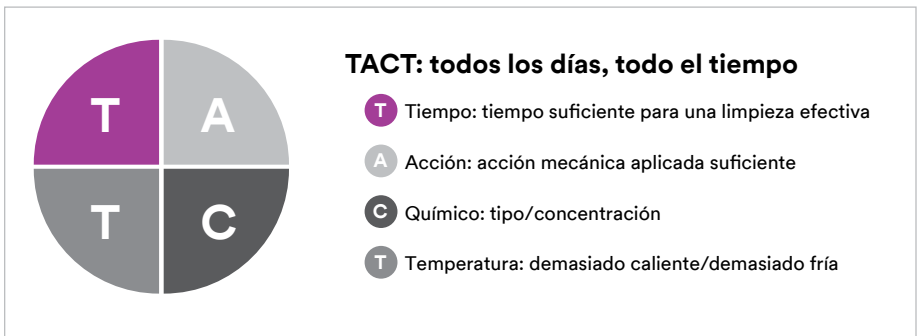
Al igual que con cualquier falla de inocuidad alimentaria, se requiere un análisis de las causas raíz para determinar la fuente de los alérgenos o el origen de la falla y una acción de seguimiento para eliminarlos, a fin de garantizar que la situación no se repita. Puede haber situaciones en las que se desconozca la fuente de la contaminación. En estos casos, las pruebas para residuos de alérgenos específicos serán probablemente mucho más útiles en el análisis de la causa raíz que el uso de pruebas no específicas como el ATP o los hisopos de proteínas.

Si la falla se produjo en la Zona 1 o en la Zona 2, donde la fuente de alérgenos es evidente (es decir, estaban presentes en el producto de la ronda anterior del equipo), entonces el núcleo del análisis de la causa

raíz consiste en determinar por qué no se eliminaron adecuadamente los residuos de alimentos. El enfoque de la causa raíz debe centrarse en el proceso de limpieza y en un posible falla en el tiempo, la acción mecánica, la concentración de sustancias químicas o la temperatura del proceso, lo que comúnmente se denomina TACT (Time-Action-Chemicals-Temperature) (Figura 4).

Otras consideraciones adicionales podrían incluir cambios, intencionales o no, en el proceso de fabricación, tales como una cocción excesiva, que hace que los residuos de alimentos sean más difíciles de eliminar, fallas en el equipo que causen salpicaduras o acumulación de productos, o cambios en las materias primas.

**Figura 4.** Enfoque TACT para evaluar la falla de la causa raíz en el proceso de limpieza





Si las fallas ocurrieron en la Zona 3 o en la Zona 4, el foco de la causa raíz debe estar en la fuente de los materiales alérgenos y su posible transporte a estas zonas. Las personas, las salpicaduras del proceso de fabricación, el polvo fino volátil, los patrones de tráfico de las grúas

horquillas y otras causas pueden ocasionar la migración de residuos que contienen alérgenos desde el área de fabricación a las Zonas 3 y 4. Los equipos de control del aire, los ventiladores y la estructura también pueden causar el transporte inadvertido de residuos de alérgenos.

## 6.7. Aspectos adicionales que se deben considerar

La selección de la prueba de detección de alérgenos adecuada a veces requiere un conocimiento más detallado de los objetivos de la prueba. Por ejemplo, muchos ensayos de leche comercial se centran en la proteína caseína, que es aproximadamente el 80% de la proteína de la leche de vaca. Este es un buen indicador para los productores que utilizan productos que contienen leche entera o queso en polvo.

Sin embargo, si los productos que contienen leche solo contienen suero en polvo, la prueba de caseína no detectará residuos de estos productos, ya que el contenido de caseína en el suero es muy bajo. En el caso de las empresas con productos que contienen suero o aislado de proteína de suero, se necesitarían pruebas dirigidas a la beta-lactoglobulina (la principal proteína del suero) para medir la transferencia de proteína de suero en su producto etiquetado como no lácteo. Existen preocupaciones similares con los alimentos que contienen yema o clara de huevo, ya que la mayoría de las pruebas de proteínas de huevo se centran en la ovoalbúmina de la clara de huevo, pero serían ineficaces para detectar la presencia de yema de huevo.

Una de las "peculiaridades" interesantes de las agrupaciones de alérgenos en los Estados Unidos y otras regiones es la agrupación de ciertas fuentes de alérgenos en grandes categorías, como las de mariscos/peces/moluscos. Algunas fuentes de anticuerpos y, a su vez, las pruebas de ELISA y LFD pueden ser específicas para ciertas especies dentro de la categoría, mientras que otras pueden tener una aplicación más general con una

amplia gama de especies. Es importante realizar una validación de cualquier prueba seleccionada para garantizar que la prueba es adecuada para el propósito y puede detectar con fiabilidad la fuente de alérgenos presente en la matriz alimentaria específica.

La detección del gluten y el trigo también presenta una serie de retos. El gluten es la proteína que produce la celiacía (una enfermedad no alérgica) y también provoca los síntomas en las personas con sensibilidad al gluten. El gluten es la principal proteína que se encuentra en una amplia gama de granos, incluido el trigo, la cebada y el centeno y sus subcultivos.

A diferencia de la celiacía, hay personas con una alergia específica a las proteínas del trigo que incluyen el gluten. Para complicar aún más este asunto, hay algunos métodos de prueba que utilizan anticuerpos de gluten que son muy específicos para el gluten de trigo con baja afinidad por el gluten de cebada, mientras que otros pueden tener una reacción más de cuatro veces más intensa al gluten de cebada que al de trigo. Los anticuerpos de gluten específicos del trigo pueden indicar que no hay presencia de gluten cuando hay cantidades significativas debido a la contaminación de la cebada. Por el contrario, los anticuerpos de gluten específicos de la cebada pueden indicar que hay 40 ppm de gluten, cuando en realidad la concentración es solo de 10 ppm de gluten de cebada. Entonces, para este caso en particular, sería importante verificar que el método seleccionado puede detectar y cuantificar específicamente el centeno, la cebada y el trigo.



## 6.8. Resumen

- Las alergias alimentarias han aumentado con el paso de los años, lo que puede tener un grave impacto en la salud pública, especialmente en los lactantes y los niños pequeños.
- La demanda actual de alimentos puede requerir que se compartan las plantas de producción para elaborar alimentos que contengan alérgenos y alimentos que debieran estar específicamente libres de alérgenos. Por lo tanto, es esencial contar con programas sólidos de inocuidad alimentaria que tengan en cuenta el monitoreo ambiental y el control de los alérgenos.
- Un programa eficaz de control de alérgenos debe ser capaz de identificar y monitorear las posibles zonas de contacto cruzado y garantizar, mediante una validación exhaustiva, que el proceso de limpieza en una planta de fabricación de alimentos sea eficaz para reducir al mínimo la contaminación con alérgenos alimentarios.
- La verificación de las medidas de control de alérgenos puede lograrse mediante pruebas de alérgenos. Se pueden utilizar dos enfoques generales:
  - Pruebas de alérgenos altamente específicas, que se basan en el reconocimiento de proteínas determinadas que dan un resultado cualitativo o cuantitativo. Se recomiendan para la validación de un proceso de limpieza, para probar el producto final libre de alérgenos y para el monitoreo ambiental.
  - Pruebas de alérgenos no específicos, que generalmente detectan el ATP y las proteínas cuya presencia puede indicar un proceso de limpieza inadecuado. Son útiles cuando la fabricación de alimentos incluye productos que contienen varios alérgenos en un mismo producto, o cuando es necesario evaluar los procesos de limpieza en general.
- La selección de un método de prueba debe estar respaldada por un análisis basado en los riesgos que ayude a determinar que las mediciones de verificación apoyarán los planes de control de alérgenos.
- Los métodos de prueba para la detección de alérgenos se basan a menudo en el reconocimiento específico de una proteína en particular. Es importante realizar una validación de cualquier prueba seleccionada para garantizar que la prueba es adecuada para el propósito y puede detectar con fiabilidad la fuente de alérgenos presente en la matriz alimentaria específica.
- Actualmente, los umbrales de alérgenos son un tema candente de debate sin una orientación clara. Según la opinión de los expertos del programa FARRP, un resultado de aprobación con un kit ELISA debería estar por debajo del límite de cuantificación del método específico (2.5 a 5 ppm para la mayoría de los kits comerciales).
- El monitoreo ambiental para el control de alérgenos debe incluir un plan de muestreo que respalde la verificación de la inocuidad alimentaria o los planes de HACCP. Se debe dar prioridad a la identificación de las áreas de alto riesgo (Zonas 1 y 2) para aumentar la frecuencia de las pruebas. También se deben considerar las áreas de riesgo moderado y bajo (Zonas 3 y 4) que se pueden probar con una frecuencia más baja.
- Una estrategia completa de control de alérgenos debe contemplar medidas correctivas a corto y largo plazo dentro del programa de monitoreo ambiental, así como el análisis de la causa principal para determinar las posibles fuentes de alérgenos y cualquier cosa que pueda causar una falla en su eliminación durante el proceso de limpieza o su exclusión en el producto final.

Más información sobre  
las pruebas de alérgenos  
[www.3M.com/AllergenMonitoring](http://www.3M.com/AllergenMonitoring)

Comuníquese con un experto  
en inocuidad alimentaria de 3M  
[www.3M.com/Connect/AllergenMonitoring](http://www.3M.com/Connect/AllergenMonitoring)



## Referencias:

1. Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act of 2004. Public Law 108-282, Title II. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/Allergens/ucm106187.htm>
2. Jackson, K.D., Howie, L.D., Akinbam, L.J. 2013. Trends in Allergic Conditions among Children: United States, 1997-2011. National Center for Health Statistics Data Brief. <http://www.cdc.gov/nchs/products/databriefs/db121.htm>
3. Gupta, R., Holdford, D., Bilaver, L., Dyer, A., Meltzer, D. 2012. The high economic burden of childhood food allergy in the United States. *J. of Allergy and Clin. Immunol.* 131: AB223-AB223. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.12.1464>
4. Food Safety News. 2017. Undeclared allergens a leading cause of food recalls in U.S. <https://www.foodsafetynews.com/2017/04/undeclared-allergens-a-leading-cause-of-food-recalls-in-u-s/>
5. Ferguson, B. 2018. Testing and Sanitation for Allergen Control. *Food Safety Magazine*. <https://www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/februarymarch-2018/testing-and-sanitation-for-allergen-control/>
6. Reglamento UE N° 1169/2011 del Parlamento Europeo y del Consejo. 2011. Anexo II.
7. Food Allergy Research and Resource Program. 2017. International Regulatory Chart. Versión del 21 de septiembre. <https://farrp.unl.edu/documents/Regulatory/International%20Allergens%209-21-17.pdf>
8. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2015. Current Good Manufacturing Practice, Hazard Analysis, and Risk-Based Preventive Controls for Human Food; Final Rule. Verification of implementation and effectiveness. § 117.165. <https://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/FSMA/ucm334115.htm>
9. Codex Alimentarius. Normas Internacionales de los Alimentos. CODEX STAN 118-1979. Revisión: 2008. Standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten.
10. Taylor, S.L., Baumert, J.L., Kruizinga, A.G., et al. 2014. Establishment of reference doses for residues of allergenic foods: Report of the VITAL expert panel. *Food Chem. Toxicol.* 63: 9-17. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.10.032>
11. Taylor, S.L. 2016. Validation and Verification of Allergen Control Plans. Food Allergy Research and Resource Program Effective Food Allergen Management Workshop. Rosemont, IL.



## CAPÍTULO 7



# Cómo impulsar un cambio significativo en su organización a través de la cultura y el monitoreo ambiental

Por

**John Butts** | Food Safety By Design

**Lone Jespersen** | Cultivate

**Michele Fontanot** | 3M Food Safety

- |             |   |    |
|-------------|---|----|
| <b>7.1.</b> | El camino hacia el control de los procesos microbiológicos                          | 86 |
| <b>7.2.</b> | Beneficios del control de los procesos microbiológicos                              | 90 |
| <b>7.3.</b> | Cultura de la empresa y control predictivo de los procesos microbiológicos          | 91 |
| <b>7.4.</b> | Dimensiones culturales, tácticas y comportamientos objetivo del monitoreo ambiental | 91 |

Como se ha explicado en este manual, un programa de monitoreo ambiental es básicamente una herramienta para medir y reflejar el control. Con un renovado enfoque de la industria en los programas que sustentan el Análisis de peligros y puntos de control críticos (HACCP, Hazard Analysis and Critical Control Points) y una mayor comprensión del importante papel que desempeña el monitoreo ambiental en la entrega de productos seguros a los consumidores, es imperativo que

los fabricantes de alimentos consideren los programas de monitoreo ambiental como algo crítico e inviertan los recursos necesarios para asegurar una ejecución efectiva. Una vez implementados, también es vital que los programas evolucionen con la organización para dar lugar a un control continuo de los procesos microbiológicos de las plantas y para fomentar una cultura de inocuidad alimentaria eficaz y positiva dentro de la organización.

## 7.1. El camino hacia el control de los procesos microbiológicos

La eficacia con que se aplique un programa de monitoreo ambiental define en gran medida la capacidad de un fabricante de alimentos para lograr el control de los procesos microbiológicos de su entorno y, por lo tanto, de su producto terminado.

El control de los procesos microbiológicos es un proceso de tres pasos:

- 1) Eliminar los microorganismos de interés residentes del ambiente de procesamiento.
- 2) Controlar el movimiento mediante la gestión de los vectores y las rutas.
- 3) Utilizar la metodología de control del proceso para medir y predecir la pérdida de control.

El concepto de control completo del proceso microbiológico utiliza el monitoreo ambiental como una herramienta para medir el nivel de control que se está logrando.

**Paso 1.** La eliminación de los microorganismos de interés residentes se mide por la presencia o ausencia de estos en la verificación, en el sitio indicador y los programas de muestreo de investigación.

La obtención de resultados negativos de estos sitios a largo plazo es un indicador clave de la eliminación.

**Paso 2.** La efectividad de las barreras y obstáculos a la entrada y el movimiento dentro del área de los productos expuestos mide el control del movimiento.

**Paso 3.** El grado de control de los procesos microbiológicos se evalúa trazando los datos recolectados (variable y atributo) en gráficos de control y calculando los índices de capacidad estadística.

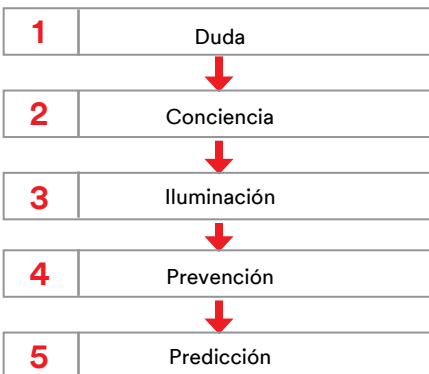
El monitoreo ambiental mide el riesgo presente en el ambiente de procesamiento y también evalúa las barreras establecidas para controlar la entrada de patógenos. Para ello es necesario tomar muestras del control del proceso o de los sitios indicadores, así como de los sitios de verificación, de manera individual y en conjunto. Estos resultados indican el nivel de control en la planta y ayudan a identificar cuándo se producen fallas o cuándo se requieren intervenciones o medidas adicionales para que el proceso vuelva a alcanzar los niveles de control requeridos.

## Control del proceso (muestreo agresivo en busca de positivos)

- Sitios indicadores
  - ▶ Inquietudes sobre el diseño sanitario de las plantas y los equipos
  - ▶ Vías de transferencia de la Zona 4 a la Zona 3 (barreras)
  - ▶ Efectividad de la identificación de zonas higiénicas
  - ▶ Post-enjuague inicial
- Sitios de verificación (indica una falla en el control del proceso)
  - ▶ Superficies de contacto de la Zona 1
  - ▶ Vías y vectores de transferencia de las Zonas 2 y 3

Es importante que el control de los procesos microbiológicos mida las condiciones de crecimiento, por ejemplo, mediante pruebas de ATP y recuento total en placa (TPC, Total Plate Count), así como la transferencia del microorganismo indicador. El camino hacia el control de los procesos microbiológicos es el de la madurez creciente, que por lo general se divide en cinco etapas<sup>1</sup>:

**Figura 1.** Cinco etapas de madurez del control de los procesos microbiológicos



### La experiencia de la industria de la carne procesada de los Estados Unidos durante su época de "Iluminación" y la introducción del diseño sanitario

Entre los finales de la década de 1980 y principios de 1990, en la industria de la carne procesada de los Estados Unidos existía un elevado nivel de conciencia sobre los peligros de *Listeria*, pero se desconocía el modo de controlarla en el ambiente de procesamiento. A pesar de sus mejores esfuerzos, las correcciones y los intentos de eliminar los sitios o nichos de refugio después de un resultado ambiental positivo eran a menudo ineficaces. La limpieza y el saneamiento minuciosos no abordaron la causa fundamental ni evitaron que los sitios se volvieran a contaminar de manera rutinaria, manteniendo a la industria en general atascada en una fase de concientización durante un largo período de tiempo.

Al llegar a un eventual estado de Iluminación, la industria experimentó aún más reveses. El enfoque de limpieza e higienización que se estaba aplicando tras un resultado positivo creó una frustrante dinámica de "apagafuegos", o de resolver el mismo problema repetidamente con los mismos resultados (definición de locura de Einstein).

Solo con la aplicación de verdaderas medidas correctivas en forma de nuevos principios de diseño sanitario de los equipos, se redujeron o eliminaron los lugares de refugio y los nichos de crecimiento.

## Duda

La etapa inicial del camino hacia el control de los procesos microbiológicos puede describirse a menudo como una de Duda. En esta etapa, la administración suele considerar el monitoreo ambiental como un costo innecesario que no ofrece ningún beneficio real, señalando típicamente el hecho de que tienen un programa de HACCP vigente y creen que su planta es de alguna manera diferente o tiene una mejor gestión que otras y, por lo tanto, el monitoreo ambiental no es algo que deba aplicarse a ellos.

## Conciencia

La siguiente etapa después de la duda es la Conciencia. En esta etapa, el fabricante de alimentos toma conciencia del potencial de un peligro microbiológico ambiental, pero no conoce la causa fundamental ni la fuente del peligro, así que no puede controlarlo.

## Iluminación

La etapa de la Iluminación se alcanza cuando, finalmente, se identifican nichos de crecimiento en una planta. La detección de estos nichos durante esta etapa de madurez es normalmente el resultado de investigaciones posteriores a incidentes más serios, por ejemplo, los positivos que aparecen en los productos finales o al descubrir y someter a pruebas los residuos durante el desmontaje de la maquinaria.

El proceso de pasar de la Conciencia a la Iluminación suele ser un proceso de gran estrés y agitación dentro de una planta, a medida que se empieza a comprender la situación y se intenta abordar el problema con medidas correctivas, siendo casi universalmente un proceso para limpiar y sanear sin llegar a la raíz del problema (Tabla 1).

Este estado de control a menudo puede asociarse con:

- Las frustraciones de la gerencia y de los empleados asociadas a la incapacidad de resolver los problemas crónicos ("Los problemas no desaparecen.")
- La tensión creada entre los departamentos.

- El aumento de los esfuerzos de saneamiento, los costos y la mano de obra (estos permanecen hasta que se alcancen las etapas de prevención y predicción).
- El estrés causado por la incapacidad de limpiar lo que no es limpiable.
- Las cantidades cada vez mayores de producto retenido, lo que trae consigo más riesgo asociado con la pérdida de control, el potencial de retiros, más participación y esfuerzos de la alta gerencia, necesidad de más espacio de almacenamiento y, en definitiva, estrés innecesario para todo el sistema.

## Prevención

El estado de Prevención se produce cuando un nicho de crecimiento o un sitio de refugio conocido puede volver a una condición sanitaria aceptable, por ejemplo, condiciones de crecimiento negativas de refugio iguales o inferiores al límite superior de la especificación preoperatoria.

La característica de este estado es la limpieza fuera del sitio (COP, cleaning-out-of-place) de todas las piezas pequeñas, herramientas de mantenimiento y utensilios del operador. Todos los equipos en zonas de alto riesgo tienen intervenciones validadas. El movimiento microbiano se reduce al mínimo mediante procesos de buena fabricación (GMP, Good Manufacturing Processes) y desinfectante de piso efectivos. Además, la separación física de la zona higiénica va acompañada de obstáculos en las barreras de la zona.

## Predicción

La etapa de Predicción ocurre cuando un nicho de crecimiento o un sitio de refugio puede gestionarse con el muestreo y el análisis de los datos del sitio indicador. Los resultados del sitio indicador fuera de control o fuera de especificación definen cuándo aplicar la intervención elegida para gestionar el contaminante.

Lamentablemente, la tecnología actual no permite eliminar mediante el rediseño todos los problemas de diseño sanitario que podrían ocasionar problemas de inocuidad alimentaria o de calidad de los productos. Los que requieren control se pueden gestionar en un método de Prevención y Predicción mediante el uso de sitios indicadores.

**Tabla 1. Cinco etapas del control de los procesos microbiológicos en las plantas<sup>1</sup>**

	Etapa 1 Duda	Etapa 2 Conciencia	Etapa 3 Iluminación	Etapa 4 Prevención	Etapa 5 Predicción
<b>Resultados del muestreo</b>	No se realizan pruebas o solo se realizan las necesarias para cumplir los requisitos regulatorios. Lamentablemente, el muestreo se suele realizar de un modo que no detecta <i>Listeria</i> .	Positivos en las superficies de contacto y los productos	Muestreo ampliado y regular de las superficies de contacto y los sitios ambientales. Positivos intermitentes en las superficies de contacto. Positivos habituales en sitios ambientales.	Los resultados positivos de la fase de Prevención temprana están dominados por sitios indicadores como el enjuague posterior. En la fase final de Prevención, hay muy pocos resultados positivos en las superficies de contacto. No hay positivos en los productos. Los resultados positivos en las instalaciones de investigación dominan el área de procesamiento listo para el consumo (RTE, ready-to-eat).	No hay positivos en la superficie de contacto. Predominan los positivos de la Zona 4. El muestreo de los puntos de transferencia con barreras arroja escasos positivos.
<b>Métodos de control</b>		Tomar muestras del producto. Reconocimiento de la naturaleza ambiental de <i>Listeria</i> .	Reconocer la existencia de nichos de crecimiento. Tomar muestras de las superficies de contacto y algunas áreas del suelo y del entorno. Iniciar la fase de rediseño.	Mapeo de nichos de crecimiento potenciales. Se programan algunas prácticas de intervención en el sitio. Gestionar los "factores críticos" del proceso de saneamiento. Participación en el rediseño de equipos y plantas.	Muestreo agresivo de alerta temprana en el lugar. Prácticas de intervención en el lugar con todo el equipo de procesamiento RTE. Enfoque en la Zona 4 y las plantas. Fases avanzadas de rediseño de equipos y plantas.
<b>Verificación</b>		Tomar muestras del producto.	Tomar muestras del producto y las superficies de contacto.	Tomar muestras del producto, de las superficies de contacto y de los vectores primarios de transferencia en el área RTE.	Tomar muestras del producto, de las superficies de contacto y de los puntos de transferencia (Zonas 1, 2, 3) en el área RTE.

## 7.2. Beneficios del control de los procesos microbiológicos

Una vez obtenido el control microbiológico, los beneficios incluyen:

### Ganancias en productividad

- El cumplimiento de los pedidos se vuelve más predecible.
- Se encuentran menos problemas durante la producción normal.
- El desempeño de la planta muestra una mayor efectividad general de los equipos (OEE, Overall Equipment Effectiveness).
- Las calificaciones de los procesos y de los productos funcionan de manera sistemática y proporcionan datos para su validación.
- La fase de Predicción permite que las intervenciones que requieren mucho tiempo y que hacen un uso intenso de los equipos se apliquen solo cuando sea necesario.

### Mitigación de riesgos

- La fase de Predicción gestiona predominantemente los nichos de crecimiento, en lugar de los sitios de refugio.
- Las compañías obtienen un mayor nivel de protección de la marca.
- Se eliminan los positivos basados en plantas y equipos.
- El foco del control está en la Zona 4 y las materias primas.

### Reducción de costos directos

- Se reducen los costos de sostenibilidad y financieros asociados a los productos que se destruyen o desvían.

- Disminuyen los costos de mano de obra y los gastos generales asociados con la gestión de los productos retenidos, y con la gestión de los efectos de las pruebas, la verificación y la recalificación en proceso.
- El tiempo de inactividad de la producción causado por resultados positivos se hace más inusual.
- La fase de Predicción permite que las intervenciones que requieren mucho tiempo y que hacen un uso intenso de los equipos se apliquen solo cuando sea necesario.
- La recopilación de datos es menos costosa y el análisis estadístico se aplica con mayor facilidad y fiabilidad.
- Se reducen los costos de los seguros.
- Los profesionales de la calidad y calidad de los alimentos dedican menos tiempo a la gestión del proceso de muestreo.
- Los costos de muestreo son menores, al mismo tiempo que se toman muestras en más sitios por varias razones:
  - ▶ Termina la aplicación de apagafuegos y se elimina el muestreo de investigación con causa justificada.
  - ▶ Las pruebas de indicadores (por ejemplo, TPC) se convierten en una parte mayor del total de pruebas.

### Mejora continua

- La comprensión de las fallas en el diseño sanitario conduce a un mejor diseño sanitario y a la reducción de los costos y la mano de obra de saneamiento.
- Las plantas pueden adoptar un enfoque más agresivo con las pruebas de indicadores.
- Se logra una calidad y una vida útil más consistente y predecible.

## 7.3. Cultura de la empresa y control predictivo de los procesos microbiológicos

### Conexión del control de los procesos microbiológicos y la cultura de una organización

La relación entre los programas efectivos de monitoreo ambiental y la cultura de una organización es más importante de lo que creen la mayoría de los profesionales de la inocuidad alimentaria y los líderes empresariales. Así, en una empresa alimentaria puede cundir la ansiedad cuando se detectan positivos en las actividades de verificación, especialmente en las culturas que se encuentran en las etapas de Duda y Conciencia (Tabla 1), en las que las actividades de inocuidad alimentaria están a cargo principalmente de profesionales de la inocuidad alimentaria.

En estas etapas, la inocuidad alimentaria está impulsada por la gestión de crisis y la plana directiva pone énfasis en la importancia de "hacer las cosas bien", mientras se realizan investigaciones que no llegan a la raíz del problema. El desarrollo de estas conductas basadas en los efectos, que esperan a que suceda una crisis para involucrar a los profesionales de las operaciones, es perjudicial para los consumidores, las marcas y el rendimiento financiero general de la empresa.

La separación entre el control del proceso y la verificación permite valorar los resultados positivos del control del proceso y concentrarse en la prevención en lugar del control a través de la crisis. Vincular los

programas de monitoreo ambiental con la cultura de la organización y la inocuidad alimentaria es fundamental. Esto crea una "visibilidad" de la imagen, los principios y valores corporativos y las posteriores conductas grupales e individuales.

La Iniciativa Global de Inocuidad Alimentaria (GFSI, Global Food Safety Initiative) ha definido la cultura de inocuidad alimentaria como "los valores, las normas y las convicciones en común de una empresa que afectan la mentalidad y las conductas hacia la inocuidad alimentaria en todos los niveles de la organización".<sup>2</sup>

Si analizamos los descriptores de la etapa de Predicción, existe la confianza en que la Zona 4 y los equipos, y el diseño de las plantas, lograrán erradicar y controlar microorganismos. Dicho de otra forma, una cultura que cree en mantener a los microorganismos lejos de los productos alimenticios y una mentalidad de que invertir en el rediseño de los equipos y la infraestructura es una actividad importante y continua. Las organizaciones deben estudiar de manera introspectiva algunas de las tácticas culturales que pueden aplicar para crear este vínculo y avanzar hacia una etapa de Predicción para el control de los procesos microbiológicos.

## 7.4. Dimensiones culturales, tácticas y comportamientos objetivo del monitoreo ambiental

Las organizaciones no pueden llegar a la etapa de Predicción sin comprender el aspecto multidimensional de una cultura de inocuidad alimentaria. Sobre la base de las cinco dimensiones de una cultura de inocuidad alimentaria<sup>3</sup>, un conjunto integrado de tácticas podría ayudar a mover una cultura. Si las tácticas se implementan de manera efectiva, los fabricantes de alimentos encontrarán "comportamientos objetivo"

que los empleados deberían exhibir constantemente (Tabla 2).

Es importante tener en cuenta que no existen dos culturas iguales y que, a diferencia del conocimiento científico en el que muchos confían para diseñar programas ambientales eficaces, es posible que se deban contratar expertos para ayudar a elaborar un plan específico para la organización y sus necesidades.

**Tabla 2.** Tácticas culturales y comportamientos objetivo

Dimensión cultural	Táctica	Comportamientos objetivo de monitoreo ambiental
Misión y valores	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Integrar el monitoreo ambiental al ciclo estratégico y operativo de la compañía / planta / negocio</li> <li>● Permitir a todos los líderes comunicar mensajes de monitoreo ambiental</li> </ul>	<p>Líderes de todas las funciones hacen preguntas activamente sobre la inocuidad alimentaria y el monitoreo ambiental en charlas de estrategia y presupuesto</p> <p>Líderes de todas las funciones incluyen mensajes de inocuidad alimentaria y monitoreo ambiental en sus comunicaciones habituales</p>
Personas	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Educación sobre inocuidad alimentaria para todos: "Ponga un hisopo en las manos de cada persona..."</li> <li>● Equipo multidisciplinario</li> </ul>	<p>Se espera que todos los empleados acepten la educación sobre inocuidad alimentaria de la empresa como parte de las competencias sus funciones específicas</p> <p>Todas las ideas sobre monitoreo ambiental, buenas y malas, son investigadas por equipos de múltiples funciones</p>
Adaptabilidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>● La zanahoria contra el garrote</li> </ul>	<p>Los líderes de equipo usan sitios indicadores y consecuencias positivas (por ejemplo, hallazgos de recompensas), lo que tiene como resultado la prevención de problemas y la mejora continua que genera confianza en el proceso de inocuidad alimentaria</p>
Uniformidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Ritmo de la comunicación</li> <li>● Perspectivas impulsadas por los datos del monitoreo ambiental</li> </ul>	<p>Los líderes diseñan la inocuidad alimentaria y el monitoreo ambiental según el ritmo de la compañía (es decir, discusiones directivas, reuniones de liderazgo, reuniones de planta y debates con los equipos de primera línea)</p> <p>Los datos de monitoreo ambiental se integran en la solución de inteligencia comercial de la empresa y se analizan las ideas desde el directorio hasta la primera línea</p>
Riesgos y peligros	<ul style="list-style-type: none"> <li>● Fotos e historias de monitoreo ambiental</li> </ul>	<p>Los miembros del equipo técnico preparan mensajes e historias continuas para que otros los utilicen en la incorporación y participación de los miembros del equipo</p>

Obtenga más información  
sobre el monitoreo ambiental  
[www.3M.com/ImprovedMonitoring](http://www.3M.com/ImprovedMonitoring)

Comuníquese con un experto  
en inocuidad alimentaria de 3M  
[www.3M.com/Connect/ImprovedMonitoring](http://www.3M.com/Connect/ImprovedMonitoring)



## Referencias:

1. Butts, J. 2011. A Team Approach for Management of the Elements of a *Listeria* Intervention and Control Program. Agric. Food Anal. Bacteriol. 1:6-14.
2. Global Food Safety Initiative. 2018. A Culture of Food Safety: A Position Paper from the Global Food Safety Initiative (GFSI). Version 1.0 – 4/11/18. <https://www.mygfsi.com/news-resources/news/news-blog/1419-a-culture-of-food-safety.html>
3. Jespersen, L., Griffiths, M., Wallace, C.A. 2017. Comparative analysis of existing food safety culture evaluation. Food Control. 79: 371-379. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.037>





## CAPÍTULO 8

# Guía de muestreo ambiental

Por

**Scott Egan** | 3M Food Safety**Burcu Yordem** | 3M Food Safety

8.1. Neutralizantes de muestreo	96
8.2. Selección del dispositivo de muestreo	100
8.3. Métodos de muestreo	101



## 8.1. Neutralizantes de muestreo

El muestreo de ambientes de procesamiento de alimentos puede presentar varios desafíos. Tratar de obtener resultados significativos que reflejen con precisión el nivel de contaminación microbiana en una superficie no es tarea fácil. Una de las dificultades es la presencia de desinfectantes que pueden seguir teniendo actividad bactericida o bacteriostática después del evento de muestreo. Esta actividad sostenida puede reducir la población microbiana dentro de la muestra antes de que tenga lugar la detección o enumeración (por ejemplo, durante el transporte) o inhibir el crecimiento de un microorganismo en los medios de cultivo utilizados en el proceso de prueba real. En última instancia, esto puede ocasionar conteos reducidos para métodos cuantitativos o resultados negativos para métodos cualitativos y, por lo tanto, no representa de manera fidedigna los riesgos presentes en el entorno de producción.

Para sortear este inconveniente, los dispositivos de recolección de muestras, como hisopos o esponjas, deben incorporar componentes que puedan neutralizar efectivamente cualquier desinfectante presente. Para seleccionar un neutralizante (o combinación de neutralizantes), debe conocerse qué tipos de desinfectantes se utilizaron en una planta, ya que no todos los neutralizantes o combinaciones son igualmente efectivos contra las diferentes clases de desinfectantes.

Otros dos aspectos importantes que hay que considerar con respecto a los neutralizantes son: la compatibilidad con el método de prueba que se va a utilizar, y si el método es cualitativo o cuantitativo. Si el objetivo es la cuantificación,

los neutralizantes seleccionados no deben favorecer el crecimiento de los microorganismos, sino simplemente mantener la población en un nivel igual o similar al del momento del muestreo.

Estos aspectos a menudo pueden pasarse por alto no solo durante la selección inicial de un neutralizante, sino también cuando cambian los desinfectantes, los métodos de prueba o los regímenes de muestreo.

La mayoría de los hisopos y esponjas disponibles en el comercio incluirán una combinación de neutralizante como parte de las formulaciones estándar o patentadas. Los líquidos neutralizantes o de muestreo más comunes y sus diversos niveles de efectividad se resumen en el contenido de la tabla de este capítulo. En el caso de formulaciones patentadas, se debe contactar al fabricante para obtener información sobre los componentes o los desinfectantes contra los que se ha demostrado su eficacia.

El **caldo Lethen** se usa comúnmente para el muestreo ambiental en las industrias alimenticia, nutracéutica, cosmética y farmacéutica.<sup>1,2</sup> Tiene capacidad neutralizante con desinfectantes base yodo, compuestos de amonio cuaternario y cloro. Sin embargo, no tiene la capacidad de neutralizar productos que contengan mercurio, formaldehído o glutaraldehído, por lo que una vez más se debe tener en cuenta el desinfectante que se está utilizando.

Además, el caldo Lethen tiene algunas capacidades de enriquecimiento, por lo que la superficie debe volver a sanearse después de recolectar la muestra.

**Tabla 1.** Composición del caldo Letheen

Composición: (fórmula típica g/L)	
Digerido enzimático de tejido animal	10.0 g
Extracto de carne	5.0 g
Polisorbato 80	5.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Lecitina	0.7 g

**El buffer neutralizante D/E** fue desarrollado por Dey and Engley para neutralizar una amplia gama de desinfectantes y sustancias químicas conservadoras antimicrobianas. Se diseñó con el objetivo de probar la eficacia de los desinfectantes más que para el muestreo ambiental. Aunque contrarresta la actividad biocida de los principales desinfectantes, también contiene un tinte indicador y tiene propiedades de enriquecimiento. Sus

amplias capacidades de neutralización pueden ser más de las necesarias, ya que pocas plantas de procesamiento de alimentos desinfectan con agentes tóxicos como productos con mercurial, formaldehído o glutaraldehído.<sup>3,4</sup> Debido a que contiene un tinte indicador y posee capacidades de enriquecimiento, las superficies se deben volver a sanear después de recolectar una muestra.

**Tabla 2.** Composición del buffer neutralizante D/E

Composición: (fórmula típica g/L)	
Digerido enzimático de caseína	5.0 g
Extracto de levadura	2.5 g
Polisorbato 80	5.0 g
Dextrosa	10.0 g
Lecitina	7.0 g
Tioglicolato de sodio	1.0 g
Tiosulfato de sodio	6.0 g
Bisulfito de sodio	2.5 g
Púrpura de bromocresol	0.02 g



A menudo, se considera que **buffer neutralizante** es un término genérico, pero en realidad se trata de una formulación específica que normalmente se utiliza en la industria para las pruebas de *Listeria*, Recuento total en placa, *Salmonella*, *E. coli*, entre otras.<sup>2,4</sup> No neutraliza efectivamente los desinfectantes con fenol, mercurio, formaldehído o glutaraldehído (aunque estos son poco

comunes en la industria alimentaria debido a su toxicidad). Tiene la ventaja de no contener agentes de enriquecimiento, por lo que no es necesario volver a sanear el sitio de muestreo después de recolectar la muestra. Tenga en cuenta que esta formulación contiene complejo de aril sulfonato y puede requerir la dilución de la muestra antes de la prueba con un método de base molecular.

**Tabla 3.** Composición del buffer neutralizante

Composición: (fórmula típica g/L)	
Complejo de sulfonato de arilo	5.0 g
Tiosulfato de sodio	0.16 g
Fosfato de potasio, monobásico	0.0425 g

La **solución de agua peptonada buferada (BPW, Buffered Peptone Water)** se usa a menudo en los sitios de sacrificio para recolectar muestras de las carcasas, como se indica en la normativa. No se recomienda su uso en superficies desinfectadas ya que tiene una capacidad

neutralizante mínima. Tenga en cuenta que la solución de agua peptonada buferada es un caldo de enriquecimiento, por lo que si se utiliza para el muestreo ambiental, la superficie debe volver a sanearse después de recolectar la muestra.<sup>5</sup>

**Tabla 4.** Composición del agua peptonada buferada o amortiguada

Composición: (fórmula típica g/L)	
Peptona	5.0 g
Fosfato de sodio, dibásico	0.16 g
Cloruro de sodio	0.0425 g
Fosfato de potasio, monobásico	1.5 g

Cabe señalar que la efectividad de diferentes medios neutralizantes comunes contra los desinfectantes comunes puede

variar y que los medios neutralizantes específicos pueden o no neutralizar desinfectantes específicos (Tabla 5).

**Tabla 5.** Efectividad de los medios neutralizantes comunes contra los desinfectantes comunes<sup>2</sup>

Desinfectante	Caldo Lethen	Buffer neutralizante D/E	Buffer neutralizante	Agua peptonada buferada o amortiguada
Compuestos cuaternarios de amonio	Sí	Sí	Sí	No
Fenoles	Sí	Sí	No	No
Yodo y cloro	Sí <sup>6,7</sup>	Sí	Sí	No
Compuestos de mercurio*	No	Sí	No	No
Formaldehído*	No	Sí	No	No
Glutaraldehído*	No	Sí	No	No
Ácido peroxiacético y peróxido de hidrógeno	Poco <sup>6,7</sup>	Sí <sup>8,9</sup>	No	No
Ácidos	Sí <sup>6,7</sup>	Sí <sup>8,9</sup>	No	No

\*No se usa comúnmente en la industria alimentaria por su toxicidad.

En el Anexo B<sup>10</sup> de EN 1650 también se pueden encontrar ejemplos de neutralizantes de desinfectantes residuales. La efectividad de cualquier neutralizante de desinfectantes debe validarse en condiciones reales de uso.

Cualquier caldo de enriquecimiento restante o residuo de solución neutralizante debe eliminarse de la superficie después de recolectar la muestra, de acuerdo con los procedimientos establecidos por el usuario.



## 8.2. Selección del dispositivo de muestreo

A menos que esté definido por regulaciones específicas, la decisión principal que se debe tomar debe ser el tipo de dispositivo (esponja o hisopo) que se va a utilizar. Los aspectos clave que hay que considerar para elegir el dispositivo son el tamaño del área del cual se va a tomar la muestra, la facilidad de acceso y el tipo de prueba que se realizará con la muestra. Un programa de monitoreo ambiental efectivo utilizará una combinación de esponjas e hisopos.

Las esponjas son dispositivos de muestreo más grandes y están disponibles en una variedad de formatos, desde porciones esterilizadas individuales hasta porciones unidas a un mango para facilitar el manejo aséptico.

Se prefieren las esponjas cuando se van a realizar pruebas cualitativas de patógenos, ya que se pueden usar para tomar muestras de un área más grande, lo que aumenta la probabilidad de detección. El área muestreada debe ser mayor a 100 centímetros cuadrados (15.5 pulgadas cuadradas) y ojalá mayor o igual a 1,000 centímetros cuadrados (155 pulgadas cuadradas).<sup>5,11</sup> Sin embargo, en muchos casos, sobre todo cuando se buscan patógenos o microorganismos índices (p. ej., *Listeria spp.*), el muestreo de áreas de un tamaño específico no es apropiado o factible ya que las ubicaciones que probablemente alberguen patógenos no son áreas que puedan evaluarse fácilmente (p. ej., grietas largas en los pisos). En estos casos, es importante tomar muestras de un área tan grande como sea posible (por ejemplo, varios metros o yardas de una grieta en el piso).

El material más común que se utiliza en la fabricación de esponjas es la celulosa o poliuretano.<sup>11,12</sup> En varios estudios se ha analizado la eficacia de cada uno de estos materiales por su capacidad para recolectar y permitir mejores tasas de detección. Sin embargo, estos estudios, de forma general, no han mostrado diferencias significativas.<sup>13,14</sup>

Las esponjas deben estar libres de sustancias inhibitorias. No se recomienda el uso de las típicas esponjas caseras para el muestreo ambiental, ya que pueden contener biocidas que inhibirían el crecimiento microbiano.

Los hisopos son dispositivos de muestreo más pequeños que consisten en una punta o cabeza para recolectar la muestra unida a un extensor largo y flexible. Debido a su menor tamaño, son más adecuados para tomar muestras en lugares de difícil acceso y, generalmente, se usan para áreas de 100 centímetros cuadrados o menos.<sup>5,11</sup>

Al ser más pequeños y fáciles de usar para tomar muestras de un área definida, los hisopos pueden ser muy útiles para las pruebas ambientales cuantitativas (por ejemplo, para microorganismos indicadores). Esto es importante porque el área definida se utilizará en el cálculo de los resultados.

El material utilizado normalmente es sintético, como alginato, dacrón o rayón. Sin embargo, a veces también se usa algodón.<sup>15</sup> Asimismo, se debe comprobar, ya sea a través de la documentación del proveedor o la validación o verificación del producto, que el dispositivo elegido no tiene ninguna actividad bacteriostática o bactericida.

Además, se debe considerar la calidad, la resistencia y el tipo de materiales que se utilizan, ya que los fragmentos del dispositivo pueden separarse, lo que lleva a la contaminación por objetos extraños de la planta y las posibles consecuencias de esto. Características adicionales, como los diseños de color azul y el ser detectados por el detector de metales, también pueden ser beneficiosas.





## 8.3. Métodos de muestreo

Los métodos de muestreo variarán según el tipo de dispositivo que se utilice y la prueba que se pretende realizar.

La humedad es uno de los factores más importantes para la supervivencia bacteriana en las superficies. Por lo tanto, independientemente del dispositivo o las pruebas previstas, se recomienda tomar muestras de una superficie humedecida o con un dispositivo de recolección humedecido para mejorar la recuperación.<sup>13</sup>

Una excepción considerable puede ser el muestreo de ambientes secos, donde la introducción de humedad puede ser desaconsejable, ya que aumenta el riesgo de crecimiento microbiano. En estos casos, se pueden usar herramientas especializadas (por ejemplo, espátulas, cucharas, cucharones) para recolectar materiales secos y polvo del medio ambiente.

También es importante tomar muestras de un solo artículo o área con cada dispositivo. De este modo se evita la contaminación cruzada entre artículos o áreas en la planta.

El muestreo de patógenos debe tener la intención general de tomar muestras de la mayor superficie posible para mejorar la probabilidad de detección. Si bien las normativas pueden especificar el tamaño del área de muestreo, generalmente se pueden tomar como tamaños mínimos. Como se explicó en el Capítulo 4, los materiales de capacitación a menudo citan áreas de muestreo específicas (12 por 12 pulgadas o 30 por 30 centímetros, por ejemplo), pero muchas áreas de superficie no son lo suficientemente cuadradas o planas para ajustarse a dicha área de superficie.

Si los sitios de muestreo no son de fácil acceso, un hisopo puede ser más adecuado. Nuevamente, la intención debe

ser obtener el mayor contacto posible con la superficie para maximizar la probabilidad de detección.

El muestreo cuantitativo puede requerir más cuidado. Por ejemplo, si el resultado de la prueba se expresa en UFC/cm<sup>2</sup>, generalmente se define y se acata un tamaño de área de muestra específico. Las plantillas de muestreo pueden ayudar con la toma de muestras de un área definida, pero se debe tener precaución ya que su uso puede provocar una contaminación cruzada.

Tampoco sería raro, incluso para el muestreo cuantitativo, apuntar a un área de tamaño indefinido. Por ejemplo, las pruebas de recuento total en placa se pueden usar para evaluar la eficacia del saneamiento en áreas de difícil acceso, en cuyo caso puede ser imposible tomar muestras de un área definida. Para estas áreas de superficie no medidas, los resultados pueden informarse en función del sitio de muestreo completo en lugar del área de superficie medida.

Cuando se toman muestras ambientales, es fundamental que se utilice una técnica aséptica adecuada para evitar la contaminación accidental de la muestra. Se recomienda lavarse o desinfectarse las manos antes de abrir el dispositivo de muestreo. Cada tipo de dispositivo de muestreo también tiene técnicas particulares que deben seguirse, junto con cualquier orientación adicional de los fabricantes si se utilizan diseños de hisopos patentados.

Los hisopos (Figura 1) deben retirarse de manera aséptica del recipiente y se debe poner especial atención para no tocar la cabeza o cualquier otra parte del extensor que se volverá a colocar en el recipiente. Durante la extracción, se debe presionar la punta del hisopo contra el recipiente para eliminar el exceso de líquido.



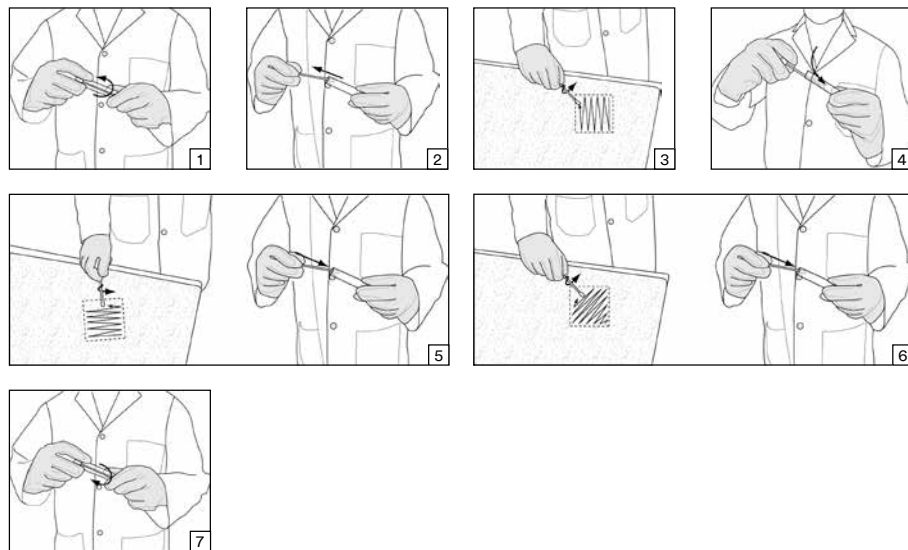
Cuando sea posible, sobre todo en áreas fáciles de aceptar muestreadas para análisis cuantitativo, las muestras se deben tomar en varias direcciones y el hisopo debe rotarse entre el pulgar y el índice. Después de frotar en la primera dirección, el hisopo debe devolverse al recipiente y enjuagarse en la solución neutralizante para retirar los microorganismos recolectados y volver a humedecer la punta. El mismo procedimiento debe repetirse en otras dos direcciones. Luego, el hisopo se sella en su recipiente para transportarlo.

Las esponjas (Figura 2) deben retirarse de manera aséptica de su recipiente utilizando guantes o pinzas estériles, o manipulando el recipiente para acceder al mango del dispositivo. Se debe tener cuidado de no contaminar la esponja o cualquier otra parte del dispositivo que se volverá a introducir en el recipiente.

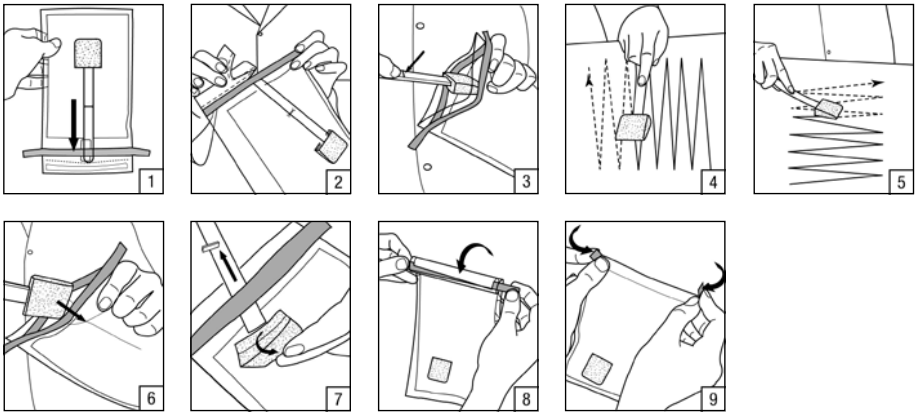
La esponja debe limpiarse sobre la superficie de muestreo con una presión firme y uniforme. Esto ayudará a separar los microorganismos que pueden estar protegidos por una biopelícula. Después de tomar muestras en una dirección, la esponja debe darse vuelta y frotar en una dirección perpendicular. Luego, la esponja debe colocarse en su recipiente, cuidando asépticamente de no insertar ninguna porción que no sea parte de la muestra (por ejemplo, los mangos de algunos dispositivos). Luego, el recipiente debe sellarse para transportarlo.

Después de haber tomado las muestras, se debe limpiar cualquier solución neutralizante de las superficies y volver a descontaminar.

**Figura 1.** Ejemplo de técnica de muestreo usando 3M™ Hisopo para muestras



**Figura 2.** Ejemplo de técnica de muestreo usando 3M™ Esponja con mango



El transporte de las muestras es el paso final en el proceso de muestreo ambiental y, nuevamente, se debe poner especial atención a algunos aspectos. Las muestras deben entregarse para su análisis a temperatura refrigerada lo antes posible, preferiblemente en un plazo de 24 horas como se detalla en la norma ISO 18593:2004.

Los recipientes utilizados para el transporte deben estar limpios y desinfectados. Deben incluir material refrigerante y mantener la temperatura de refrigeración durante el transporte.

Cuando se reciba en el laboratorio, la temperatura interna del dispositivo de transporte debe verificarse con un termómetro.<sup>2</sup> Además, no se debe permitir que las muestras se congelen bajo ninguna circunstancia, ya que las temperaturas bajo cero pueden matar o dañar a los microorganismos presentes.

Si no es posible realizar el análisis de la muestra dentro del período de tiempo recomendado o transportar las muestras de manera adecuada, se deben preparar y validar alternativas para garantizar que la sensibilidad del método no se vea comprometida.<sup>4</sup>

Más información sobre  
la recolección de muestras  
[www.3M.com/SurfaceSampling](http://www.3M.com/SurfaceSampling)

Comuníquese con un experto  
en inocuidad alimentaria de 3M  
[www.3M.com/Connect/SurfaceSampling](http://www.3M.com/Connect/SurfaceSampling)



## Referencias:

1. Downes, F. P., Ito, K., and American Public Health Association. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods (4th ed.). Washington, DC: American Public Health Association.
2. The Compendium of Analytical Methods. Volume 3. Laboratory Procedures for the Microbiological Analysis of Foods. 2010. MFLP-41: Environmental sampling for the detection of microorganisms. Health Canada.
3. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2015. Testing Methodology for *Listeria* species or *L. monocytogenes* in Environmental Samples. Versión 1. <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm114664.htm>
4. Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. 2014. FSIS Compliance Guideline: Controlling *Listeria monocytogenes* in Post-lethality Exposed Ready-To-Eat Meat and Poultry Products. <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/d3373299-50e6-47d6-a577-e74a1e549fde/Controlling-Lm-RTE-Guideline.pdf?MOD=AJPERES>
5. Organización Internacional para la Normalización. 2018. ISO 18593:2018. Microbiology of the food chain - Horizontal methods for surface sampling.
6. 3M Food Safety. 1985. Lethen Broth: A Neutralizing Solution for Iodine, Chlorine, Quaternary Ammonium and Acid Sanitizers (Internal Data).
7. 3M Food Safety. 2012. Sample Handling Sponges – New Sponge Qualification Performance Summary. TB.119.00.
8. Ignatovich, I., Podtburg, T., Leishman, O., Steinagel, S. 2017. Comparison of Neutralizing Buffered Peptone Water and Dey/Engley Broth in the Recovery of *Salmonella enterica* from Broiler Carcass Rinsates. J Food Protection. 80 (Suplemento A): 163.
9. Park, Y.J., Chen, J. 2011. Mitigating the Antimicrobial Activities of Selected Organic Acids and Commercial Sanitizers with Various Neutralizing Agents. J Food Protection. 74: 820-825. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-10-447>
10. EN 1650:2008. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal activity of chemical disinfectants and antiseptics in food, industrial, domestic, and industrial areas - Test method and requirements (phase 2 step 1).
11. Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos. 2017. Capítulo 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. Bacteriological Analytical Manual. <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>

12. Servicio de Inocuidad e Inspección de Alimentos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Microbiology Laboratory Guidebook. 2017. Method 8.10: Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry and Egg Products, Ready-To-Eat Siluriformes (Fish) and Environmental Samples. <https://www.fsis.usda.gov/wps/portal/fsis/topics/science/laboratories-and-procedures/guidebooks-and-methods/microbiology-laboratory-guidebook/microbiology-laboratory-guidebook>
13. Keeratipibul, S., Laovittayanurak, T., Pornruangsarp, O., Chaturongkasumrit, Y., Takahashi, H., Techaruvichit, P. 2017. Effect of swabbing techniques on the efficiency of bacterial recovery from food contact surfaces. *Food Control*. 77:139-144. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.02.013>
14. Sheth, I., Li, F., Hur, M., Laasri, A., De Jesus, A. J., Kwon, H. J., Macarisin, D., Hammack, T., Jinneman, K, Chen, Y. 2018. Comparison of three enrichment schemes for the detection of low levels of desiccation-stressed *Listeria* spp. from select environmental surfaces. *Food Control*. 84:493-498. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.08.022>



## Nuestros colaboradores



### **Alexandra Belias**

Universidad de Cornell

Alexandra Belias es una estudiante de posgrado que trabaja para obtener un doctorado en Ciencias de los Alimentos en la Facultad de Agricultura y Ciencias de la Vida de la Universidad de Cornell. Su trabajo actual se centra en proyectos asociados con el seguimiento de la contaminación de patógenos en productos agrícolas. Belias tiene una licenciatura en Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Purdue.



### **Christian Blyth**

3M Food Safety, Canadá

Christian Blyth es un técnico especialista en ventas y patógenos en 3M Food Safety, que ha trabajado en la subsidiaria de 3M Canadá durante más de una década. Blyth, experto en regulación sobre inocuidad alimentaria, a menudo da charlas sobre temas de inocuidad alimentaria que involucran patógenos en conferencias de la industria. Posee una licenciatura en Biología de la Universidad de Waterloo en Ontario.



### **Dr. John Butts**

Food Safety By Design

El Dr. John Butts es el fundador y presidente de Food Safety By Design, una firma de consultoría privada que ayuda a los fabricantes de productos de alto riesgo a aprender cómo prevenir y gestionar mejor los riesgos de inocuidad alimentaria. Butts también es asesor del CEO de Land O' Frost, y ha desempeñado un papel técnico en Land O' Frost desde 1974. Recibió un doctorado de la Universidad de Purdue en 1974.



## **Dr. Ken Davenport**

3M Food Safety

El Dr. Ken Davenport es el gerente de desarrollo de productos de 3M Food Safety, con sede en St. Paul, Minnesota. Con más de 15 años de experiencia en la industria alimentaria y 20 años de experiencia en el desarrollo y las aplicaciones de métodos rápidos, Davenport tiene una vasta y profunda experiencia en química e inocuidad alimentaria microbiana. Tiene una licenciatura en Química de la Universidad Spring Arbor, un doctorado del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Rice, y un M.B.A. de la Universidad de Minnesota.



## **Jean-Francois David**

3M Food Safety, Europa

Jean-Francois David es el asesor científico para Europa de 3M Food Safety. Ubicado actualmente en Francia, donde presta apoyo en la implementación de nuevos productos y tecnologías para clientes de 3M, David tiene más de 20 años de experiencia en inocuidad alimentaria. Cursó estudios en la Escuela de Graduados de Microbiología e Inocuidad Alimentaria de Brest (ESMISAB, Ecole Supérieure de Microbiologie et de Sécurité Alimentaire de Brest) en Brest, Francia.



## **Michele Fontanot**

3M Food Safety, Latinoamérica

Michele Fontanot es gerente de servicios de consultoría profesional para Latinoamérica en 3M Food Safety. Radicada en Perú, Fontanot aprovecha su experiencia en inocuidad alimentaria para ayudar a los clientes de la región a trabajar en la implementación de productos y tecnologías de 3M, de manera que satisfagan efectivamente sus necesidades de procesamiento y fabricación alineadas con las normas y estándares internacionales. Posee una licenciatura de la Universidad Cayetano Heredia en Lima y una Maestría en Ciencias de la Universidad de Chile en Santiago.





## **Thomas Grace**

### **Bia Diagnostics**

Thomas Grace es CEO de Bia Diagnostics, uno de los principales laboratorios de pruebas de alérgenos alimentarios en Norteamérica. Grace ocupa un puesto honorario en el Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Vermont. Ha trabajado en diversos campos, desde la investigación del cáncer en Dartmouth College y la Facultad de Medicina de la Universidad de Vermont, hasta el desarrollo de metodologías de vanguardia en micromatrices y tecnologías SPR. Grace es coautora de numerosos artículos científicos, que van desde la transducción de señales celulares y la regulación de oncogenes hasta la aplicación de SPR en la cuantificación del ácido fólico en los alimentos.



## **Dra. Lone Jespersen**

### **Cultivate**

La Dra. Lone Jespersen es directora y fundadora de Cultivate, una organización dedicada a ayudar a fabricantes de alimentos de distintas partes del mundo a preparar alimentos inocuos y de excelente sabor a través de la efectividad cultural. Adquirió una experiencia muy significativa en la fabricación de alimentos, al haber pasado 11 años con Maple Leaf Foods, a cargo de la ejecución de la estrategia de inocuidad alimentaria y la estrategia de aprendizaje de operaciones de la compañía. La Dra. Jespersen posee una maestría en Ingeniería Mecánica de la Universidad Syd Dansk, Dinamarca, una maestría en Ciencias de la Alimentación de la Universidad de Guelph, Canadá y un doctorado en Inocuidad Alimentaria Basada en la Cultura con el Dr. Mansel Griffiths en la Universidad de Guelph, Canadá.



## **Gareth Lang**

### **3M Food Safety, Europa**

Gareth Lang es gerente de servicios profesionales de Europa Occidental para 3M Food Safety. Con experiencia en una variedad de roles de servicio microbiológico técnico y profesional, capacita y da respaldo a una amplia gama de clientes y distribuidores de alimentos y bebidas, trabajando en estrecha colaboración con sus equipos técnicos para abordar las necesidades inmediatas y comprender las cuestiones emergentes que ayudan en el desarrollo de nuevos productos y servicios que mejoran el control de la inocuidad alimentaria. Lang estudió Ciencias de Laboratorio Médico en la Universidad de Cardiff, donde se especializó en Microbiología Médica.



## **Cari Lingle**

3M Food Safety

Cari Lingle es microbióloga del servicio técnico global de 3M Food Safety y se especializa en productos 3M™ Petrifilm™ Plate. Trabaja en St. Paul, Minnesota, donde brinda asistencia técnica y educación a nivel de expertos para los equipos de ventas, marketing y fabricación de 3M Food Safety, así como servicios técnicos y profesionales locales. Lingle obtuvo una licenciatura en Microbiología de la Universidad Estatal de Dakota del Norte y una maestría en Biología Celular y Molecular de la Universidad de Missouri-Kansas City.



## **Dra. Gabriela Lopez Velasco**

3M Food Safety

La Dra. Gabriela López-Velasco, radicada en St. Paul, Minnesota, ha sido microbióloga senior en 3M Food Safety desde 2015. Trabaja con los servicios técnicos globales y los equipos de ingenieros de aplicaciones, aprovechando su experiencia en inocuidad alimentaria para proporcionar capacitación técnica y aplicación de la cartera de 3M Food Safety. Actualmente, supervisa la plataforma 3M™ Pruebas de alérgenos. Recibió su doctorado en Ciencia y Tecnología de Alimentos del Instituto Politécnico y Universidad Estatal de Virginia y trabajó como investigadora postdoctoral en la Universidad de California en Davis.



## **Louise Roberts**

Alimenti Food Sciences Ltd

Louise Roberts es la fundadora y directora ejecutiva de Alimenti Food Sciences Ltd, una consultora técnica de alimentos independiente. Con experiencia en microbiología, gestión técnica y gestión de la cadena de suministro, Roberts ha trabajado en los aspectos de fabricación, venta minorista y servicios alimentarios de la cadena de suministro de alimentos. Sus intereses profesionales se centran en la inocuidad alimentaria y el cumplimiento de las normativas, así como en el fraude alimentario y los métodos de protección para las empresas. Estudió Biología Aplicada en el Politécnico de Plymouth y tiene una licenciatura en Microbiología del Politécnico del Noreste de Londres. También posee un certificado de posgrado en Educación de la Universidad de Worcester y es científica colegiada.



## **Dra. Abigail Snyder**

Universidad Estatal de Ohio

La Dra. Abigail Snyder es profesora asistente en la Facultad de Ciencias Alimentarias, Agrícolas y Ambientales de la Universidad Estatal de Ohio. Su investigación se centra en la caracterización de microorganismos deterioradores y la evaluación de métodos apropiados para su control. Snyder también trabaja con la industria a través de OSU Extension para proporcionar capacitación y soporte técnico. Realizó su doctorado en la Universidad de Cornell.



## **Dra. Kelly Stevens**

General Mills

La Dra. Kelly Stevens es la gerenta senior del equipo de Operaciones Globales de Inocuidad Alimentaria y Regulatorio en General Mills. Ella es la encargada del cumplimiento normativo y de inocuidad alimentaria mundial, es formadora de formadores de la Alianza de Controles Preventivos de Inocuidad de Alimentos (FSPCA, Food Safety Preventive Controls Alliance) y se desempeñó como líder del equipo de implementación de la Ley de Modernización de Inocuidad Alimentaria (FSMA, Food Safety Modernization Act) de General Mills. Stevens ingresó a General Mills en 2004 y ha desempeñado diversas funciones en la organización de calidad, incluidas tres tareas de campo: ingeniería de calidad y gerente de calidad, gerente de microbiología y gerente de calidad de primas, licencias y actividades de muestreo. Obtuvo sus títulos de máster y doctorado en Ciencias de los Alimentos en la Universidad Estatal de Carolina del Norte.



## **Genevieve Sullivan**

Universidad de Cornell

Genevieve Sullivan es una estudiante de posgrado que trabaja para obtener un doctorado en Ciencias de los Alimentos en la Universidad de Cornell. Su proyecto actual implica el desarrollo de estrategias de control de *Listeria* para plantas de productos agrícolas mediante el diseño, la implementación y la evaluación del monitoreo ambiental de patógenos (PEM, pathogen environmental monitoring) de *Listeria* y programas de "búsqueda y destrucción", utilizando datos a partir de la secuenciación del genoma completo. Sullivan obtuvo una licenciatura en Ciencias de los Alimentos de la Universidad de Cornell.



## **Martin Wiedmann, Dr. en Medicina, Dr. en Veterinaria**

Universidad de Cornell

El Dr. Martin Wiedmann pertenece a la Familia Gellert de profesores en Inocuidad Alimentaria en la Facultad de Agricultura y Ciencias de la Vida de la Universidad de Cornell. Con capacitación como veterinario y científico de alimentos, los programas académicos de Wiedmann hacen hincapié en un enfoque integral e interdisciplinario de la granja a la mesa con respecto a la inocuidad alimentaria. Su investigación se centra en la transmisión y la biología de sistemas de patógenos bacterianos transmitidos por los alimentos y microorganismos deterioradores, involucra la aplicación de diversas disciplinas y la colaboración entre múltiples instituciones. Obtuvo su título de veterinario y su doctorado en medicina veterinaria en la Universidad Ludwig Maximilian de Munich, y realizó su doctorado en Ciencias de la Alimentación en la Universidad de Cornell.



## **Dr. Randy Worobo**

Universidad de Cornell

El Dr. Randy Worobo es profesor de Microbiología de los Alimentos en la Facultad de Agricultura y Ciencias de la Vida de la Universidad de Cornell. El objetivo principal de su investigación son enfoques alternativos para mejorar la inocuidad y la calidad de los alimentos, e incluye el deterioro microbiano de alimentos y bebidas, alternativas de procesamiento no térmico para jugos y bebidas, así como la transmisión y supervivencia de patógenos en frutas y vegetales. Worobo también colabora con la industria mediante su extenso programa de difusión, que se lleva a cabo a través de talleres, conferencias y contacto directo con fabricantes de alimentos en todo el mundo. Tiene un doctorado de la Universidad de Alberta.



## **Dra. Burcu Yordem**

3M Food Safety

La Dra. Burcu Yordem es una científica de servicio técnico global de 3M Food Safety, que supervisa tecnologías como el 3M™ Clean-Trace™ Sistema de control y gestión de la higiene. Radicada en St. Paul, Minnesota, brinda asistencia técnica global a nivel de expertos para los clientes de 3M Food Safety, así como para los equipos de ventas, marketing y fabricación. Yordem posee un doctorado en Genética Molecular de Cultivos de la Universidad de Massachusetts, Amherst, y ocupó un puesto postdoctoral en el Laboratorio de Enfermedades de Cereales del Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA-ARS, United States Department of Agriculture-Agricultural Research Service).

**EDITOR****John David****3M Food Safety**

John David es el gerente de marketing científico global de 3M Food Safety, con sede en St. Paul, Minnesota. David dirige iniciativas globales de educación para clientes y la creación de contenido científico de impacto en asociación con expertos de la industria. Tiene experiencia en biología molecular y microbiología y, anteriormente, se desempeñó en el desarrollo de ensayos de diagnóstico, integración de sistemas y comercialización de nuevos productos. David obtuvo una licenciatura en Biotecnología y una maestría en Biología Molecular y Genética en la Universidad de Delaware.

**EDITOR****Scott Egan****3M Food Safety, Australia**

Scott Egan es el especialista técnico de 3M Food Safety Australia y Nueva Zelandia. En este cargo, se mantiene al tanto de las regulaciones locales, las tendencias emergentes y las prácticas recomendadas del sector para ayudar a respaldar a la industria local, al tiempo que proporciona soporte experto para la cartera de productos de inocuidad alimentaria de 3M. Recibió una licenciatura en Ciencias Biomédicas de la Universidad de Western Sydney y, anteriormente, trabajó en laboratorios de patología y microbiología industrial y desempeñó funciones de control de calidad, investigación y desarrollo y mejora de procesos para la fabricación de ensayos de diagnóstico.

El Manual de monitoreo ambiental de 3M tiene por único objeto proporcionar una orientación general. La información técnica, las recomendaciones y otras declaraciones contenidas en este documento se basan en la experiencia y la información que 3M considera fiable, pero no se garantiza la exactitud o integridad de dicha información. Esa información está destinada a personas con conocimientos y aptitudes técnicas suficientes para evaluar y aplicar su propio juicio fundamentado en la información, teniendo en cuenta la naturaleza de sus actividades, las políticas vigentes y las leyes y reglamentos particulares que puedan aplicarse.

Obtenga más información sobre el monitoreo ambiental en [www.3M.com/EnvironmentalMonitoring](http://www.3M.com/EnvironmentalMonitoring)



**3M Food Safety**

3M Center, Building 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000 EE. UU.  
Teléfono 1-800-328-6553  
[3M.com/foodsafety](http://3M.com/foodsafety)

**3M Canadá**

Casilla postal 5757  
London, Ontario N6A 4T1 Canadá  
Teléfono 1-800-364-3577

© 3M 2019. Todos los derechos reservados. 3M, Clean-Trace y Petrifilm son marcas comerciales de 3M. Uso bajo licencia en Canadá. Recicle. Impreso en EE. UU.

70-2011-5169-6