

CONTROL MICROBIOLÓGICO EN ALIMENTOS V GAMA: NORMATIVA, RIESGOS, TÉCNICAS

D. Armando Marín Martínez (armandomarin@eurofins.com)
Assistant Sales and Technical Manager
Eurofins Análisis Alimentario Nordeste SLU

Palabras Clave: límites legales, microorganismos alterantes y patógenos, técnicas analíticas, microbiología tradicional y rápida, plan de control.

1 VISION GENERAL DE LA NORMATIVA

Definamos en primer lugar lo que entendemos por alimentos V Gama: son platos preparados (productos ya elaborados para reducir al mínimo su preparación doméstica) sometidos a un tratamiento térmico (o equivalente) inferior a la esterilización, envasados al vacío o en atmósfera modificada y comercializados en refrigeración. Por otra parte presentan un valor añadido, se entiende que son mínimamente procesados, esto es: el tratamiento térmico debe ser lo más débil posible para preservar los valores organolépticos y nutricionales, y además presentar la mínima cantidad de aditivos añadidos, por lo que su formulación (ph,aw...) y procesado se diseña con el fin de obtener este objetivo.

En el ámbito anglosajón REPFEDs, siglas a las que se refieren a su denominación en inglés "Refrigerated Pasteurized Foods of Extended Durability", es decir, alimentos pasteurizados refrigerados de durabilidad ampliada.

De conformidad con el Reglamento (CE) no 2073/2005 de la Comisión de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, único actualmente en vigor.

1.1 **Si nuestro producto puede considerarse listo para el consumo, lo que el reglamento define en su Artículo 2**, como alimentos destinados por el productor o el fabricante al consumo humano directo sin necesidad de cocinado u otro tipo de transformación eficaz para eliminar o reducir a un nivel aceptable los microorganismos peligrosos deberíamos cumplir:

ANEXO I, Capítulo 1. Criterios de seguridad alimentaria

Categoría de alimentos	Microorganismos/ sus toxinas, metabolitos	Plan de toma de muestra ¹		Límites ²		Métodos analíticos de referencia	Fases en la que se aplica el criterio
		n	c	m	M		
1.2 Alimentos listos para el consumo que pueden favorecer el desarrollo de <i>L.monocytogenes</i> , que no sean los destinados para lactantes o usos médicos especiales	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g ⁵		EN/ISO 11290-2	Productos comercializados durante toda su vida útil
		5	0	Ausencia en 25 g ⁷		EN/ISO 11290-1	Antes de que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido
1.3 Alimentos listos para el consumo que no pueden favorecer el desarrollo de <i>L.monocytogenes</i> , que no sean los destinados para lactantes o usos médicos especiales ^{4,8}	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 cfu/g		EN/ISO 11290-2	Productos comercializados durante toda su vida útil

(1) n=número de unidades que componen la muestra; c=número de unidades de muestra con valores superiores a m o comprendidos entre m y M

(2)- m=M

(4)-En circunstancias normales, no es útil realizar pruebas regulares sobre este criterio para los siguientes productos alimenticios listos para el consumo: — los que hayan recibido tratamiento térmico u otro proceso eficaz para eliminar la *L. monocytogenes*, cuando la recontaminación no sea posible tras este tratamiento (por ejemplo, productos tratados térmicamente en su envase final),

(5)-Este criterio se aplica si el fabricante puede demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 ufc/g durante su vida útil. El explotador podrá fijar límites intermedios durante el proceso que deberían ser lo suficientemente bajos para garantizar que no se supere el límite de 100 ufc/g al final de la vida útil.

(7)-Este criterio se aplica a los productos antes de que hayan abandonado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria cuando éste no pueda demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 cfu/g durante su vida útil.

(8) Se considera automáticamente que pertenecen a esta categoría los productos con $pH \leq 4,4$ o $a_w \leq 0,92$, productos con $pH \leq 5,0$ y $a_w \leq 0,94$, y los productos con una vida útil inferior a 5 días. Otras categorías de productos también pueden pertenecer a esta categoría, siempre que se justifique científicamente.

En suma nuestro producto deberá presentar un recuento de *L. monocytogenes* menor a 100 ufc/g durante el periodo de vida comercial que hayamos establecido, si podemos demostrar que nunca se sobrepasara este recuento. Lo que automáticamente se cumple si lo hacen la nota 4 y 8. Y deberá presentar ausencia de *L. monocytogenes* al dejar las instalaciones si no podemos demostrarlo.

1.2 **Si nuestro producto no puede considerarse listo para el consumo, no presenta criterio microbiológico legal.** Deberá indicarse en el envase que debe cocinarse antes de su consumo y hay que tener en cuenta que esta indicación lo clasifica automáticamente en esta categoría.

Dado que hay una obligatoriedad implícita en el Reglamento CE Nº 178/2002 que establece los requisitos generales de seguridad alimentaria, de producir alimento seguros para el consumidor. Nos vemos obligados a considerar otros microorganismos patógenos no incluidos en el Reglamento (CE) no 2073/2005. Por lo que deberemos basarnos en Normativas derogadas, bibliografía o recomendaciones internacionales. Las cuales adquirirán cierta legalidad (CE nº 852/2004 relativa a la higiene de los productos alimentarios) si se encuentran recogidas en los APPCC's de la empresa.

En la práctica nos basaremos en los criterios microbiológicos derogados de nuestro Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas. **Grupo A: comidas preparadas sin tratamiento térmico y comidas preparadas con tratamiento térmico, que lleven ingredientes no sometidos a tratamiento térmico.**
Grupo B: comidas preparadas con tratamiento térmico.

	Parámetros	Grupo A	Grupo B
Indicadores	Aerobios totales	n=5, c=2 m= 10 ⁵ M= 10 ⁶	n=5, c=2 m= 10 ⁴ M= 10 ⁵
	Coliformes Totales	n=5, c=2 m= 10 ³ M= 10 ⁴	n=5, c=2 m= 10 ¹ M= 10 ²
Testigos de falta de higiene	<i>Escherichia coli</i>	n=5, c=2 m= 10 ¹ M= 10 ²	Ausencia en g
	<i>S. aureus</i>	n=5, c=2 m= 10 ¹ M= 10 ²	n=5, c=1 m= 10 ¹ M= 10 ²
Patógenos	<i>Salmonella</i>	n=5, c=0 Ausencia en 25 g	n=5, c=0 Ausencia en 25 g
	<i>Listeria monocytogenes</i>	n=5, c=2 m= 10 ¹ M= 10 ²	n=5, c=0 Ausencia en 25 g

En el Reglamento (CE) nº 2073/2005 se establecen otras obligaciones que debemos considerar. Enlazando con la categorización de nuestro producto en los dos apartados del criterio 1.2, y de conformidad con el artículo 3, deben realizarse estudios de caducidad para investigar el cumplimiento de los criterios a lo largo de toda la vida útil del producto. En el Anexo II del Reglamento se enumeran las características de estos estudios, que tras la especificación fisicoquímica del producto, pueden basarse en: bibliografía científica, histórico de datos de la empresa, modelos microbiológicos predictivos, estudios de caducidad real y estudios de caducidad con microorganismos patógenos inoculados "challenge test".

En lo que respecta a la frecuencia de la toma de muestras en el artículo 4, delega la responsabilidad en el explotador de la empresa salvo que la misma esté establecida en el Anexo I y siempre teniendo en cuenta la naturaleza y dimensiones de la empresa.

El reglamento tras remarcar en su preámbulo la importancia de la toma de muestras del entorno como instrumento útil para identificar y prevenir la presencia de microorganismos patógenos en los productos alimenticios. Establece en su artículo 5, punto 2 que se tomaran muestras en las zonas de trabajo y el equipo de trabajo cuando tal toma sea necesaria para garantizar el cumplimiento de los criterios y que las empresas alimentarias que produzcan alimentos listos para el consumo susceptibles de plantear riesgo de *L.monocytogenes* deberán tomar siempre muestras de las zonas y el equipo de producción.

Por último en reglamento especifica los métodos analíticos de referencia a utilizar. Pero en el punto 24 del preámbulo recomienda se utilicen otros métodos, en particular unos más rápidos, siempre que estos métodos alternativos produzcan resultados equivalentes. Así en el artículo 5, punto 5 autoriza el uso de métodos alternativos cuando estos estén validados con respecto al método de referencia establecido en el anexo I y si se utiliza un método registrado, certificado por terceros conforme al protocolo de la norma EN/ISO 16140 u otros protocolos similares internacionalmente aceptados.

2 SELECCIÓN DE LA MICROBIOLOGIA EN FUNCION DEL ALIMENTO

2.1 FACTORES INTRINSECOS Y EXTRINSECOS

A la hora de plantear el control microbiológico de nuestro producto debemos conocer los riesgos microbiológicos alterantes y patogénicos que este presentara. La alteración de los alimentos y eventualmente el crecimiento de microorganismos patógenos es el resultado de la selección de microorganismos cuyas propiedades fisiológicas les permiten dominar numéricamente en los nichos que se originan de las interacciones de las propiedades físico-químicas del alimento (factores intrínsecos) y de las condiciones de elaboración, almacenado y distribución (factores extrínsecos). Así que el primer paso es conocer estos:

2.1.1 FACTORES INTRINSECOS.

- Materias primas: naturaleza, forma de conservación,..
- Composición y formulación del producto (% sal, aditivos...)
- Estructura del producto (influirá en el tratamiento térmico)
- Microbiota natural
- Acidez total y pH
- aw
- Disponibilidad de oxígeno

2.1.2 FACTORES EXTRINSECOS.

- Elaboración
- Sistema y material de envasado (vacío, atmósfera protectora, O₂/CO₂,...)
- Tratamiento térmico (temperatura/tiempo, anterior o posterior al envasado)

- Temperatura de almacén y distribución

Microorganismo	Límites de crecimiento			Aeróbico/ Anaeróbico	Tratamiento	Efecto patogénico
	<Tª	<ph	<aw		Resistencia a la temperatura	
<i>B.cereus</i>	4	4,3	0,95	Facultativo	Alta (1)	INF y TOX
<i>Campylobacter jejuni</i>	32	4,9	0,99	Micro-aerofilo	Baja	INF
<i>C. botulinum A. mesofilos/proteolíticos</i>	10	4,6	0,93	Anaerobio	Alta	TOX
<i>C. botulinum E psicrófilos/ no proteolíticos</i>	3,3	5,0	0,97	Anaerobio	Alta (2)	TOX
<i>C. perfringens</i>	12	5,0	0,95	Anaerobio	Alta	INF
<i>E.coli</i>	7	4,4	0,95	Facultativo	Baja	INF
<i>E.coli O157</i>	6,5	4,5	0,95	Facultativo	Baja	INF
<i>L. monocytogenes</i>	0	4,3	0,92	Facultativo	Baja(3)	INF
<i>Salmonella</i>	7(5,2)	4,0	0,94	Facultativo	Baja	INF
<i>S. aureus</i>	6(10 tox)	4,0(4,5 tox)	0,83(0,90 tox)	Facultativo	Baja	TOX
<i>V. cholerae</i>	10	5,0	0,97	Facultativo	Baja	INF
<i>V. parahaemolyticus</i>	5	4,8	0,94	Facultativo	Baja	INF
<i>Y. enterocolitica</i>	-1	4,2	0,96	Facultativo	Baja	INF
<i>Pseudomonas spp</i>	<0	5,5	0,97	Aerobia	Baja	-
Enterobacterias	2	4,4	0,94	Facultativo	Bajo	-
Bacterias ácido lácticas	4	3,8	0,94	Facultativo	Baja	-
Levaduras	-5	1	0,80	Facultativo	Baja	-
Mohos	<0	2	0,60	Aerobio	Baja	-

INF=infección TOX= toxiinfección

(1)Presentan mayor resistencia térmica que el *Clostridium botulinum* tipo E

(2)Los *C. botulinum* mesófilos presentan mayor resistencia térmica que los psicrófilos y solo son destruidos por esterilización, pero no crecen en refrigeración. Es necesario 80°C/10 minutos o equivalente para conseguir 6 reducciones decimales de *Clostridium botulinum* psicrófilos.

(3)Es necesario 70°C/2minutos o equivalente para conseguir 6 reducciones decimales de *Listeria monocytogenes*.

2.2 RIESGOS EXISTENTES

De la combinación de factores intrínsecos y extrínsecos, esto es de su efecto sinérgico o "barrera" debemos deducir cuales serán nuestros microorganismos diana a considerar para nuestro producto.

Así en productos V Gama el tratamiento térmico destruye a los patógenos no resistentes al calor y a parte de los alterantes, el envasado en condiciones reducidas de oxígeno, el almacenamiento a bajas temperaturas y la combinación (fundamentalmente) entre aw y pH, inhibe el desarrollo de las esporas de los microorganismos resistentes al calor y bacterias vegetativas que han sobrevivido al tratamiento.

En estas circunstancias en condiciones idóneas de proceso y almacén/distribución en el producto sólo proliferarán microorganismos psicrófilos y anaerobios. Sin embargo y dado que debemos considerar la posibilidad de fallos en el proceso analizaremos:

- Como indicadores alterantes:
 - Bacterias aerobias totales.
 - Bacterias ácido lácticas, levaduras, mohos (si lo consideramos).
- Como indicadores de higiene:
 - Coliformes totales y/o enterobacterias.
 - *E. coli* betaglucoronidasa+
- Como microorganismos patógenos:
 - *Stafilococos* cuagulasa positivo.

- *Salmonella* ssp.
- *Listeria monocytogenes* (investigación y/o recuento).
- *Bacillus cereus* (en productos con alto contenido en féculas o vegetales).
- *C. perfringes* (en producto con carne).

2.3 RIESGOS EMERGENTES

Cita: "A la pequeña parte de ignorancia que organizamos y clasificamos le damos el nombre de conocimiento". Ambrose Bierce

Vivimos en un mundo global y la movilidad de personas, animales y mercancías es constante, se consumen alimentos a miles de kilómetros del lugar donde se han producido. Esto unido a que los microorganismos están cambiando constantemente para evolucionar y adaptarse, nos da una idea de la dificultad de enumerar los posibles patógenos emergentes y a su vez de la importancia de su vigilancia. Tal es así que dependiente de la EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria), en el año 2008 se creó la Unidad de Riesgos Emergentes (EMRISK) con la responsabilidad de establecer procedimientos y realizar las acciones necesarias para poder identificar riesgos emergentes procedentes de alimentos y piensos.

Existe una creciente preocupación por *E. coli* O157:H7 (vegetales frescos y ciertos productos cárnicos), *Campylobacter jejuni* (en carne de aves), *Yersinia enterocolitica* (en vegetales frescos), virus transmitidos por alimentos (vegetales frescos, ostras,...), transmisión de cepas resistentes a los antibióticos y todo ello sin olvidar viejos patógenos que no dejan de perder su importancia, como *Salmonella* spp con la aparición de nuevas cepas patógenas.

En V gama, el interés por aplicar tratamientos más débiles para obtener productos organolépticamente más valorados y el "factor consumidor" como causante de la "ruptura de la cadena de frío", ha hecho que sean las bacterias esporuladas psicotrofas (*B. cereus*, *B. thuringiensis*, *C. botulinum* tipo E) los posibles "patógenos emergentes "a vigilar".

3 TÉCNICAS EMPLEADAS

3.1 TRADICIONALES VS RÁPIDAS

El aumento de la preocupación por la seguridad alimentaria, la implantación de los APPCC's y sistemas de calidad, el cumplimiento de las expectativas de nuestros clientes,..., en suma, la necesidad de liberar productos conforme resultados, nos obliga a analizar un gran número de muestras y a obtener resultados rápidos que permitan aplicar acciones correctivas inmediatas en la cadena de fabricación. Esto influye tanto a los laboratorios internos de la propia industria como a los laboratorios externos contratados, por ello el auge de los métodos rápidos.

BACGene	Enriquecimiento		Lisis	PCR
PCR	Enriquecimiento		Lisis	PCR
BACSpec	1 Enriquecimiento	2 Enriquecimiento	Incubado	ELISA
ELISA	Enriquecimiento		Lisis	PCR
ISO 11290-1	1 Enriquecimiento	2 Enriquecimiento	Sembrado	Subcultura
	-----24h-----	-----48h-----	-----3d-----	-----4d-----

Tendremos por tanto que aplicar una ecuación riesgo-beneficio, definir nuestro propósito y conocer las limitaciones y beneficios de los métodos empleados. Siempre teniendo en cuenta además el efecto matriz que nuestros productos pueden tener en el método.

MÉTODO TRADICIONAL	MÉTODO RÁPIDO
<ul style="list-style-type: none"> • Mucho tiempo y laborioso • Simple, práctico, poca experiencia (a veces hay que tenerla para reconocer colonias) • Económico • Mucho volumen de material y medios • Son métodos de referencia (legales) • Analizamos células vivas • El crecimiento es específico (selectivo) y se inhiben otras • Suele ser a la vez cualitativo y cuantitativo (informa de la severidad) • Sólo puede analizarse un patógeno a la vez 	<ul style="list-style-type: none"> • Menor tiempo, acción correctora rápida (no liberar productos, no comprar materias primas,..) • Costo elevado de los equipos, pero puede amortizarse por los beneficios de su rapidez, mayor rendimiento y menor mano de obra • Son "alternativos". La empresa tendrá que validarlos (ISO 16140:2003), ahora bien muchos ya están certificados por organismos internacionales (AFNOR, MICROvaL..) Paradójicamente esta certificación puede facilitar la certificación interna • No se analizan células vivas (no es aplicable a ciertos métodos mejorados, Petrifilm, medios cromogénicos) • En métodos de recuento indirecto hay que establecer una correlación entre "nuevas medidas" y "viejas unidades" (colonias formadas) • En métodos ausencia/presencia detectamos parte de la célula, podemos detectar microorganismos muertos que no son capaces de crecer en medios artificiales (falsos positivos) • En inmunoensayos y PCR, se necesita un "preenriquecimiento" (limita la rapidez) para: diluir inhibidores, recuperar dañadas, evitar la heterogeneidad de la distribución de los microorganismos en el alimento y conseguir un número de microorganismos acorde con la sensibilidad del método • Puede conseguirse enriquecimientos más cortos con métodos de concentración (ultrafiltración, atg-atc, magnetismo) • Sobre todo en inmunoensayos pueden darse reacciones cruzadas (falsos positivos) • Todos los positivos tienen que ser confirmados, lo que dilata el tiempo total de análisis, en estos casos • La mayoría daña la célula, para confirmar es necesaria "otra" muestra • Posibilidad de realizar análisis de varios patógenos a la vez (PCR, microarrays) • Posibilidad de investigar presencia de toxinas

3.2 PREDICTIVA

La microbiología predictiva comprende el estudio de la respuesta de crecimiento, o de inhibición, de microorganismos que crecen en alimentos, en función de factores que les afecten (temperatura, pH, gases, etc.) y a partir de estos datos crear modelos matemáticos para predecir lo que sucederá durante el almacenamiento y procesado.

Es una herramienta útil que nos dará respuestas rápidas y anticipadas para:

- predecir la vida útil (ya citamos anteriormente que así se considera en (CE) nº 2073/2005).
- calcular el tiempo de vida comercial hasta el cual se podría garantizar que no crecería un patógeno (ej: *Listeria monocytognes*) hasta alcanzar los niveles de riesgo.
- desarrollar productos. Prediciendo las consecuencias microbiológicas por cambios de composición o proceso.

- inspección y muestreo. Obteniendo información para planear tiempos de muestreo y estimar las necesidades del mismo.

En su aplicación se requieren conocimientos previos de los programas informáticos, así como de las limitaciones de los modelos matemáticos que se contemplan, los cuales pueden no ajustarse a una situación real empresarial.

Se consideran tres tipos de modelos.

- Modelos primarios: describen cambios en el número de microorganismos u otras respuestas microbianas con el tiempo.
- Modelos secundarios: describen las respuestas de los modelos primarios a los cambios en las condiciones medioambientales.
- Modelos terciarios: son programas de ordenador que transforman a los modelos primarios y secundarios en herramientas de fácil uso para los usuarios del modelo.
 - ComBase: <https://www.ifr.ac.uk/ComBase/>
 - Pathogen Modeling Program. PMP 6.1: <https://www.arserrc.gov/mfs/pathogen.htm>
 - Seafood Spoilage Predictor (SSP) <https://www.dfu.min.dk/micro/ssp>
 - Food Spoilage Predictor (FSP) <https://www.hdl.com.au/html/body-fsp.htm>
 - nuevos en desarrollo: IRTA

3.3 NOVEDADES

Resulta difícil hacer previsiones a largo plazo, en un mundo tan cambiante como el actual es más prudente hablar de tendencias. Una de ellas en estos últimos años es la investigación sobre plataformas moleculares más sofisticadas, biosensores, microrraarrays, nanocantilevers y dispositivos "lab-on-a-chip".

Tecnologías que fusionan la "biología", la nanotecnología (muy importante) y la electrónica, con el objetivo de crear sistemas sencillos, manejables, que además de en laboratorio puedan emplearse y/o integrarse en la línea de producción, e incluso puedan integrarse en envases o ser utilizados por el propio consumidor.

4 PLANTEAMIENTO CONTROL - PLAN DE CONTROL MICROBIOLÓGICO

4.1 INTRODUCCIÓN

Debido a la distribución heterogénea de los microorganismos en los alimentos dentro de un lote y entre lotes, la seguridad de los alimentos no está garantizada ni controlada por pruebas microbiológicas, si no por un *enfoque preventivo* y adecuada implantación de los APPCC's. (Punto 5 preámbulo Reglamento (CE) nº 2073/2005).

Dentro de este enfoque preventivo toma gran importancia en *Análisis de las Tendencias* de los datos que genere nuestro plan microbiológico, cuando se observe tendencia a resultados insatisfactorios, se adoptarán sin demora las medidas adecuadas para rectificar la situación con el fin de evitar la repetición de los riesgos microbiológicos (Art. 9 Reglamento (CE) nº 2073/2005).

4.2 OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS MICROBIOLÓGICAS

- ❖ Verificar y supervisar que los PCC están adecuadamente controlados.

- ❖ Demostrar con evidencias analíticas (documentales) que el proceso están bajo control y productos elaborados cumplen con los criterios microbiológicos legales y/o establecidos. Los datos obtenidos nos deben servir para obtener una base de datos para el análisis de tendencias.
- ❖ Validar nuevos procesos, productos o equipos, estableciendo estándares para su control.
- ❖ Liberar por resultado en algunos productos con alto riesgo asociado o como exigencia de nuestros clientes.
- ❖ Cumplir con las especificaciones de nuestros clientes.

4.3 CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS (PARÁMETROS):

- ❖ Legales. El no cumplimiento califica al producto como no apto para el uso previsto.
- ❖ Recomendaciones/especificaciones internas. El no cumplimiento obliga a una acción correctora.
- ❖ Especificaciones contractuales. Acordadas con nuestros clientes.

4.4 FRECUENCIA Y NÚMERO DE MUESTRAS:

A la hora de establecer la frecuencia de análisis es importante considerar el concepto de «lote»: grupo o conjunto de productos identificables obtenidos de un proceso determinado en circunstancias prácticamente idénticas y producidas en un lugar dado en un período de producción determinado. El tamaño del lote es un punto clave a considerar en cualquier acción de gestión de riesgo.

La frecuencia de análisis microbiológicos no está legalmente establecida y debe ser el fabricante el que la determine conforme considere adecuado en sus APPCC's (pto 2, Art 4, Reglamento (CE) nº 2073/2005)

Para establecer la frecuencia debemos considerar la evolución de riesgo del producto o materia prima a analizar:

- Riesgos asociados.
- Conocimiento del producto o proveedor en su caso.
- Historial (tendencias) del producto o proveedor en su caso.
- Volumen del lote considerado.

Número de unidades de muestras a analizar (n) y establecido en el anexo I del Reglamento (CE) nº 2073/2005, puede reducirse si el fabricante puede demostrar que cuenta con un APPCC eficaz. (Pto 3, Art 5).

4.5 PUNTOS DE MUESTREO

4.5.1 **Materias primas.**

A considerar: proveedor, producto, lote. **Muy importante las materias primas que no han sufrido transformación**, en su mayoría deberán servirnos para estudiar tendencias (indicadores), tan sólo algunas de mayor riesgo y si lo permite su vida comercial, podrán comprarse por resultados positivos y en tal caso no deberán entrar en el proceso hasta tener los resultados.

4.5.2 **Proceso.**

Materias primas o productos en procesos intermedios, nos servirán para conocer el efecto del proceso sobre patógenos e indicadores y controlarlo en su caso.

4.5.3 Superficies y ambiente.

Superficies: El objetivo es comprobar la eficacia del programa de limpieza y desinfección, crear tendencias e investigar/validar nuevos productos o sistemas de limpieza. Deben realizarse tras la limpieza y desinfección o antes de empezar el proceso de producción (preoperativo). En algunos casos podremos controlar superficies durante proceso de fabricación (operativas) para conocer la influencia de su "carga bacteriana" en el producto.

Estableceremos un plan que contemple superficies en contacto con el producto (más importantes) y superficies que no lo estén. Pueden ser rotativos por puntos, productos, turnos de trabajo y días. La frecuencia puede disminuir conforme resultados. Se debe hacer especial hincapié en zonas de difícil limpieza.

Podremos utilizar sistemas rápidos de análisis (ATP, o sistemas similares) que nos permitirán por su rapidez supervisar puntos de contacto críticos y no utilizarlos en caso que no se consideren limpios.

Debemos establecer un programa específico para el control de *Listeria spp/L. monocytogenes* en superficies. (Pto 2 Art 5 Reglamento (CE) nº 2073/2005).

Control ambiental: importante en envasado y sobre todo si el envasado es posterior al tratamiento. También a controlar los gases de envasado/frío.

4.5.4 Agua.

RD 140/2003. A considerar: red/captación propia. Limpieza y desinfección/ingrediente. Rotación puntos muestreo. Fines de línea.

4.5.5 Manipuladores.

Hisopado/Toallas/Españijas de manos o guantes como en el caso del control de superficies en operativo / preoperativo y considerando la labor de los mismos.

4.5.6 Producto final.

A considerar: producto, tipo, lote.

Será evidencia documental de que todo el proceso ha funcionado correctamente, a la hora de establecer frecuencias remitirnos al concepto de lote y lo descrito en el punto 4.

4.6 VIDA ÚTIL

Dado que tenemos que demostrar que a lo largo de toda su vida útil nuestros productos son seguros y apropiados para su consumo, necesitamos planificar la realización de estudios de caducidad que tengan en cuenta las condiciones razonablemente previsibles de distribución, almacén y uso.

No debemos olvidar que es obligación legal que los fabricantes de alimentos listos para el consumo (RTE) realicen estudios de vida útil para *Listeria monocytogenes* especialmente si permiten el crecimiento de la misma, ver notas Reglamento.

La elaboración de un histórico de datos de los niveles de microorganismos existentes al principio, durante y al final de vida útil nos permitirá verificar y confirmar que dicha vida útil establecida es apropiada y no supone ni un riesgo ni una alteración organoléptica significativa. Con la particularidad de que se corresponderá con la realidad del perfil de contaminación y comportamiento microbiológico de los productos en relación a la empresa.

Tendremos que revisar la "vida útil" siempre que realicemos modificaciones en productos o procesos.

4.7 ACCIÓN

En todo control microbiológico debe quedar suficientemente claro, los límites a considerar y las acciones a tomar en caso de desviación de dichos límites.

5 CONCLUSIONES

- **Conocer bien mi proceso y mi producto: análisis de riesgos.**
- **Basarse en la legislación y estar informado, para tener en cuenta y conocer los posibles riesgos emergentes.**
- **Aplicar las mejores técnicas en función del objetivo y fin buscado.**
- **Realizar mi plan de muestreo en base a los puntos anteriores.**
- **Revisar dicho plan cada vez que haya un cambio significativo que afecte a cualquiera de los puntos anteriores.**

6 BIBLIOGRAFIA

REGLAMENTO (CE) nº 2073/2005 DE LA COMISIÓN de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

REGLAMENTO (CE) nº 178/2002 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 28 de enero de 2002 por el que se establecen los principios y los requisitos generales de la legislación alimentaria, se crea la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y se fijan procedimientos relativos a la seguridad alimentaria.

REAL DECRETO 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas.

Introducción a la microbiología moderna de los alimentos. R.G. Board. Editorial Acribia 1988.

Guidelines for good hygienic practice in the manufacture of chilled foods. E.C.F.F.(European Chilled Food Federation) 1996

Guidance Note No. 15 Cook-Chill Systems in the Food Service Sector (Revision 1) Food Safety Authority of Ireland Abbey Court Lower Abbey Street Dublin 1

Guidance Note No. 18 Validation of Product Shelf-life (Revision 3) Food Safety Authority of Ireland 2017

MICROBIAL SAFETY of MINIMALLY PROCESSED FOODS, Edited by John S. Novak • Gerald M. Sapers • Vijay K. Juneja. 2003 CRC Press LLC. Rapid Detection of Food-borne Pathogens CHG4360 John Paul Handrigan (4646280) December 2010

Daelman, J. 2013. **Quantitative microbiological exposure assessment of *Bacillus cereus* in cooked-chilled foods.** Thesis submitted in fulfilment of the requirements for the degree of doctor (PhD) in Applied Biological Sciences. Faculty of Bioscience Engineering, Ghent University.

Risks for public health related to the presence of *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp, including *Bacillus thuringiensis* in foodstuffs. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), ADOPTED: 9 June 2016

EMERGING FOODBORNE PATHOGENS JEFFREY M. FARBER ICMSF Health Canada, Ottawa, ON, Canada Punta del Este, Uruguay Monday 5 October 2009. **Rapid Methods and Automation in Microbiology.** Daniel Y.C. Fung, PhD. Professor of Food Science Kansas State University. 225 Call Hall Manhattan, Kansas 66506-1600 **COMPREHENSIVE REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND FOOD SAFETY—** Vol. 1, 2002

Advances in Rapid Detection Methods for Foodborne Pathogens. Xihong Zhao^{1, 2,3}, Chii-Wann Lin, Jun Wang, and Deog Hwan Oh^{2*}. *Microbiol. Biotechnol.* (2014), 24(3), 297–312

Nuevas técnicas para la detección de microorganismos en los alimentos. Andrés Otero Carballeira. *Universidad de León, Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos*
Encuentro de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2007) Santander, 13 Septiembre 2007

Alternative / Rapid Microbiological Methods, RMM.IMB GMP Information Seminar, Crowne Plaza, 27th September 2012. Greg McGurk, Executive Inspector. IRISH MEDICINES BOARD

Quality risk management and the economics of implementing rapid microbiological methods. Michael J. Miller, Ph.D. *President, Microbiology Consultants LLC.* Reprinted from **European Pharmaceutical Review Issue 2 2009**

Methods for Rapid Detection of food borne Pathogens: An Overview P.K.Mandal, A.k. Biswas, K. Choi Uk Pal. *American Journal of Food Thecnology* 6(2)87.102 20011

Innovative Soluciones for *Listeria* Detection and Monitoring. Dr Nicholas Krohn 23 rd of May 2017. **Eurofins | Gene Scan. Setting Standards**

Biosensors for the Detection of Food Pathogens Palmiro Poltronieri 1,* , Valeria Mezzolla 1, Elisabetta Primiceri 2,3 and Giuseppe Maruccio 2,3 *Foods* 2014, 3, 511-526; doi:10.3390/foods3030511

Aplicaciones de los Microarrays y Biochips en salud humana. Informe de Vigilancia Tecnológica. Genoma España 20. Nov. 2005

Aplicaciones de biosensores en la industria agroalimentaria. Informe de vigilancia tecnológica (vt). Fundación para el conocimiento madri+d CEIM Enero 2005

Tendencias sobre seguridad alimentaria. Informe de Vigilancia Tecnológica (vt). Fátima Mateos, Sandra Rodríguez. Fundación EOI, 2015, Madrid 2015.

Grupo de Investigación HIBRO , AGR-0170. Microbiología predictiva. Rosa María García Gimeno Dpto. Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Córdoba

Aplicaciones de los modelos predictivos en la industria alimentaria: casos de estudio sobre *Listeria monocytogenes*. A.valero, R.M.García. E.Carrasco, F.Perez, y G. Zurea. 48 *Alimentaria* Septiembre 05