

## INFORMACIÓN TÉCNICA

# METODOLOGÍA PARA REALIZAR ESTUDIOS DE EVIDENCIA MICROBIOLÓGICA EN PLANTAS PROCESADORAS DE ALIMENTOS<sup>1</sup>

*Eric Wong-González<sup>2</sup>*

## RESUMEN

**Metodología para realizar estudios de evidencia microbiológica en plantas procesadoras de alimentos.** Se diseñó una metodología para realizar estudios de evidencia microbiológica en plantas procesadoras de alimentos. La metodología consta de seis pasos: definición del objetivo general del estudio, visita a la planta respectiva, diseño de un plan de muestreo, escogencia de los análisis microbiológicos, recolección de los datos, y análisis y utilización de los resultados y conclusiones. Para cada uno de los pasos se describe su objetivo, filosofía y procedimientos asociados. La aplicación de esta metodología permite obtener una serie de conclusiones importantes con respecto a evidencia microbiológica, que sirven como base para diseñar e implementar los sistemas HACCP, pues brindan información específica y propia del ambiente de proceso donde se realizó el estudio.

**Palabras claves:** evidencia microbiológica, estudio microbiológico, contaminación microbiana, HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control), inocuidad alimentaria.

## ABSTRACT

**Methodology to conduct microbial assessment studies in food processing plants.** A methodology to conduct microbial assessment studies in food processing plants was designed. This consists of a series of steps each with its own objective and procedure. The methodology consists of the following six steps: definition of the general objective, visit to the plant, design of a sampling protocol, choosing microbial methods to be deployed, data collection, and analysis and utilization of results and conclusions. Application of this methodology allows reaching a series of important conclusions regarding microbial evidence. These conclusions are useful as a basis to design HACCP plans, as they provide specific information about the processing environment.

**Key words:** microbial assessment, microbial examination, microbial contamination, HACCP (Hazard Critical Control Points), food safety.



## INTRODUCCIÓN

Las exigencias de los consumidores por productos alimenticios que sean seguros y de alta calidad son cada día mayores. Esto ha provocado que la industria alimentaria aumente esfuerzos para lograr la producción de alimentos inocuos que satisfagan las

expectativas del consumidor, aumentando así la competitividad e inserción en los mercados bajo el marco de los actuales procesos de globalización.

Pearson y Dutson (1995) coinciden en la necesidad que existe en las plantas procesadoras de alimentos de contar con programas que aseguren la calidad e inocui-

<sup>1</sup> Recibido: 20 de setiembre, 2007. Aceptado: 18 de enero, 2008. Proyecto de investigación.

<sup>2</sup> Escuela de Tecnología de Alimentos, Centro Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Ciencias Agroalimentarias, Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica. Correo electrónico: ewong@cariari.ucr.ac.cr

dad de los productos elaborados. Estos autores consideran que el sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control, conocido como HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point), ofrece una de las mejores alternativas para cumplir con ese objetivo.

El HACCP es un sistema preventivo que se basa en la aplicación de siete principios científicos, y que busca controlar aquellos puntos críticos en los procesos de elaboración en donde una pérdida de control puede implicar un riesgo para la salud del consumidor. Los peligros se clasifican en físicos, químicos y biológicos, incluyendo éste último a bacterias patógenas, virus y parásitos (Stevenson y Bernard 1995). De acuerdo con Bean y Griffin (1990), las bacterias patógenas causan el 87% de las enfermedades de origen alimentario causadas por agentes biológicos. Esto, aunado a la existencia de métodos para su detección en contraste con los virus y parásitos, hace que el estudio de ese grupo sea de gran importancia cuando se pretende prevenir enfermedades de transmisión por alimentos.

Para que un sistema HACCP funcione en una industria alimentaria, ésta tiene que establecer previamente una serie de programas de soporte que coadyuvan en la prevención de los peligros significativos. Estos programas se relacionan con aspectos como: la limpieza y desinfección dentro de la planta, el mantenimiento preventivo de los equipos, el control metrológico de los instrumentos de medición, la capacitación del personal, los sistemas de documentación, y el control que se ejerce sobre proveedores (Pierson y Corlett 1992).

Para lograr la implementación exitosa del HACCP y de los programas de soporte es imprescindible contar con información histórica o evidencia sobre la ocurrencia de peligros en el proceso que se estudia. Esto es importante para definir cuáles de los peligros son significativos y concentrar los esfuerzos en su prevención, prestando menos atención a aquellos cuya probabilidad de ocurrencia y/o severidad es menor. De acuerdo con Gill (1995), los sistemas HACCP solo son efectivos si se identifican apropiadamente los peligros microbiológicos asociados con las etapas del proceso de elaboración, así como las condiciones higiénicas en las que se llevan a cabo las diferentes operaciones. Para Gill y Jones (1992), el primer paso en el diseño e implementación de sistemas HACCP

es la realización de estudios de evidencia microbiológica en el ambiente de trabajo.

Considerando todo lo anterior, se planteó una metodología para la realización de estudios de evidencia microbiológica en plantas de procesamiento de alimentos. Esta metodología puede ser utilizada para generar la información necesaria en relación con peligros microbiológicos, de manera que pueda establecerse apropiadamente un sistema de gestión de la inocuidad en estas empresas.

## DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA

Con base en el conocimiento técnico del autor y las consultas realizadas a otros profesionales que trabajan en el campo, se procedió a definir una serie de pasos que, al aplicarlos, permitieran obtener evidencia microbiológica en una planta procesadora de alimentos.

Se definieron seis pasos: el proceso inicia con el establecimiento o definición del objetivo general del estudio. Luego, se continúa con una visita a la planta en donde se desea realizar el estudio, seguido por el diseño de un plan de muestreo con la escogencia respectiva de los análisis microbiológicos a realizar. Una vez definido lo anterior, se procede a recolectar los datos, analizarlos y a establecer las conclusiones respectivas, con el fin de darle una utilización a la información en beneficio de la calidad e inocuidad de los productos elaborados en dicha planta. A continuación se describe el objetivo, filosofía, y procedimientos para cada uno de los pasos definidos en el diseño de esta metodología.

### 1. Definición del objetivo general del estudio

Es importante definir el objetivo general del estudio en función de la información que se requiere obtener de manera que éste delimite el alcance del estudio y oriente el resto de actividades que se van a plantear como parte de la investigación.

## 2. Visita a la planta procesadora de alimentos

El objetivo de este primer paso es obtener toda la información necesaria para poder diseñar el plan de muestreo en el siguiente paso. En esta visita, el investigador debe realizar un recorrido por toda la planta y observar los procesos en los que va a realizar el estudio de evidencia microbiológica. Debe dársele especial importancia a aquellos aspectos que tengan relación con la inocuidad del producto y que se consideren críticos de acuerdo con las condiciones encontradas durante el recorrido. A pesar de que es el investigador quien debe determinar qué aspectos observar de acuerdo con la actividad específica de la planta, se listan a continuación, y a manera de ejemplo y recomendación, algunos aspectos que es importante incluir durante la visita:

- Ubicación de la planta
- Número de empleados
- Calidad de la infraestructura de la planta
- Plano de organización de la planta física
- Compromiso de la gerencia con la calidad e inocuidad
- Apoyo administrativo para las labores de proceso
- Capacidad financiera de la empresa
- Descripción de los productos que se elaboran en la planta
- Diagrama de flujo para la elaboración de los productos
- Nivel tecnológico que muestran los procesos
- Cumplimiento de normas de higiene y buenas prácticas de manufactura
- Sistema de mantenimiento y control metrológico de los equipos
- Mecanismos de capacitación para el personal
- Sistema de control de calidad de materias primas e insumos
- Controles de proceso
- Listado de errores, deficiencias, y aspectos críticos observados

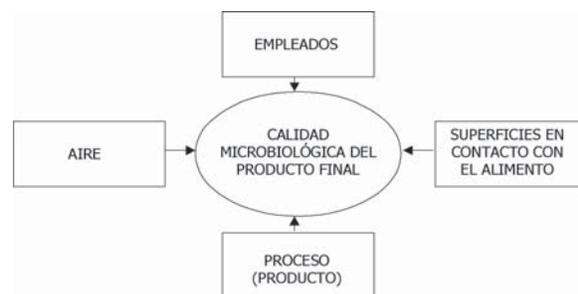
Se recomienda al lector, una vez que haya estudiado toda la estrategia que el autor plantea, que regrese a este paso y lo analice nuevamente. En el momento en que vaya a realizar el estudio, es importante que prepare una guía para la visita, de manera que no olvide observar o preguntar aspectos de importancia necesarios.

## 3. Diseño de un plan de muestreo

El objetivo fue diseñar un plan de muestro para la toma de las muestras que se analizarán para obtener los resultados esperados del estudio de evidencia microbiológica. Las muestras deben tomarse en puntos estratégicos en los que se sabe se obtendrá información valiosa relativa a posibles riesgos microbiológicos en los procesos y también relativa a aspectos críticos relacionados con la calidad y deterioro de los alimentos, según sea el objetivo general planteado.

La estrategia diseñada considera cuatro fuentes de microorganismos dentro de un ambiente de procesamiento de alimentos. Estas fuentes pueden contribuir a la contaminación microbiana de los productos finales y son el aire, las superficies que entran en contacto con los alimentos, los empleados y el proceso (Figura 1). Dentro del proceso, se distinguen como fuentes de contaminación a la materia prima, otros insumos y a los procedimientos en cada etapa del proceso. La estrategia también considera importantes, dentro de la fuente proceso, las acciones que más bien tienen un control positivo sobre la contaminación microbiana en los productos finales.

El diseño del plan de muestreo debe entonces considerar las cuatro fuentes de contaminación microbiana y las etapas que tienen control sobre esa contaminación. Con base en la información obtenida en el segundo paso de la estrategia, se procede a definir los puntos de muestreo que garanticen la obtención de información relevante en cuanto a evidencia microbiológica y de acuerdo con el objetivo general planteado



**Figura 1.** Fuentes que pueden aportar contaminación microbiana a los productos finales elaborados en una planta procesadora de alimentos.

para el estudio. A continuación se describen algunos lineamientos y sugerencias para cada una de las fuentes de contaminación:

*a) Aire*

Para escoger los lugares donde se tomarán las muestras de aire, es importante considerar la ubicación de la planta en cuanto a puntos cardinales y solicitar información con respecto a las velocidades y direcciones del viento en la zona. Con base en esta información se define cual es el recorrido del viento dentro de la planta (por dónde entra, en que orden pasa por las diferentes zonas de la planta física, por dónde sale y/o dónde es interrumpido su paso). Una vez determinado el recorrido, se procede a escoger aquellos puntos estratégicos en la planta donde el análisis de la calidad microbiológica del aire puede aportar información útil con respecto a su contribución a la calidad microbiológica de los productos finales.

*b) Superficies en contacto con los alimentos*

Dentro de un ambiente de procesamiento de alimentos existen muchas superficies que pueden entrar, directa o indirectamente, en contacto con un alimento. Para escoger las superficies que serán analizadas en el estudio de evidencia microbiológica debe considerarse la probabilidad de que la superficie pueda transferir contaminación importante al producto. Lo anterior estará siempre en función de las prácticas que implica el proceso del comportamiento de los empleados, y de las normas de higiene que aplican a estas superficies en la planta donde se realiza el estudio.

Por ejemplo, si todas las unidades que se producen de un determinado producto alimenticio se colocan sobre una mesa antes del empaque, y en la visita se corroboró que esa mesa no es desinfectada durante el proceso (solamente antes de iniciarlo y al terminarlo), resulta de gran interés conocer cual es la contaminación microbiológica de esa mesa durante el proceso, para determinar el riesgo que existe de contaminación cruzada entre productos.

Las superficies que entran en contacto con los alimentos pueden variar mucho entre un proceso y otro, por lo que el investigador debe realizar un análisis específico para el caso que estudia. Sin embargo, a manera de ejemplo, algunas de las superficies que pueden incluirse dentro del plan de muestreo son el piso, las paredes, mesas, equipos y utensilios.

*c) Empleados*

Los empleados pueden directamente transferir contaminación al producto mediante de sus manos, brazos, fosas nasales y demás. Muchos son portadores asintomáticos de bacterias o virus patógenos, por lo que pueden transmitir estos microorganismos de alto riesgo a los alimentos sin estar enfermos. Nuevamente, la lógica al escoger los empleados sobre los cuales realizar análisis debe ser la de escoger aquellos que entran en contacto directo con el alimento, sobre todo después de los procesos en los que se ha ejercido control sobre la contaminación. Este análisis puede requerir de permisos especiales y de previo consentimiento del empleado, dependiendo de los procedimientos de contratación de la empresa y de las regulaciones locales.

*d) Proceso*

Al igual que en los casos anteriores, deben escogerse los puntos del proceso más significativos desde el punto de vista de los riesgos microbiológicos. Normalmente las materias primas se incluyen dentro de este tipo de estudios para determinar la contaminación inherente que ingresa a la planta. También otros insumos, como materiales de empaque, pueden escogerse para el análisis, con el fin de determinar una posible contribución a la contaminación microbiológica de los productos finales. Aquellas etapas en las que se considera que el riesgo podría aumentarse pueden estudiarse determinando la contaminación del producto en proceso antes y después de aplicar la etapa (ej. molienda de carne). El mismo razonamiento puede emplearse para aquellas etapas en las que más bien se ejerce un control sobre la contaminación, con el fin de corroborar si se cumple el objetivo para el cual

fueron diseñadas e implementadas (ejs. cocción, lavado). Cuando el presupuesto para realizar el estudio es limitado, se aplican los lineamientos anteriormente definidos con el fin de escoger los puntos de muestreo más importantes. Finalmente, una vez definidos todos los puntos de muestreo, es importante asignar códigos a cada uno clasificándolos por tipo de fuente y mostrar su ubicación en un esquema de la planta física.

#### 4. Escogencia de los análisis microbiológicos

Una vez que se ha definido el plan de muestreo, el investigador debe determinar cuáles análisis microbiológicos va a realizar para cada una de las muestras recolectadas en función del objetivo que se planteó para el estudio de evidencia microbiológica. Si el objetivo principal es tener evidencia acerca del riesgo de la presencia de patógenos debe realizar análisis de presencia/ausencia de aquellos patógenos significativos para el tipo de producto que está analizando, y de acuerdo con la información obtenida durante la visita inicial. También podría realizar análisis de algunos microorganismos indicadores que se sabe correlacionan con la presencia de algunos patógenos. Si el objetivo, además, incluyera encontrar evidencia de microorganismos que contribuyen al deterioro del producto, debe entonces escoger aquellos análisis específicos que le permitan obtener información acerca de los niveles de esos grupos más importantes en el producto y proceso que se estudia.

De preferencia, los métodos de análisis que se escojan para los diferentes microorganismos o grupos de microorganismos definidos, deben ser métodos oficiales aprobados por un organismo competente, de manera que los resultados tengan la credibilidad necesaria y puedan ser utilizados a conveniencia de la empresa donde se realiza el estudio. Normalmente el recuento en aire se expresa en ufc/m<sup>3</sup>, el de las superficies y manos de empleados en ufc/cm<sup>2</sup>, y el de muestras de producto en proceso en ufc/g.

#### 5. Recolección de datos

Una vez definidos el plan de muestreo y los análisis microbiológicos a realizar sobre cada muestra, el investigador debe definir el período en el cual realiza

el estudio y la frecuencia de muestreo correspondiente a ese período. Es reconocido por la comunidad científica mundial, que los índices microbiológicos varían según la época del año en que se tomen las muestras. Desde ese punto de vista, es recomendable que los estudios de evidencia microbiológica abarquen períodos cuya extensión permita conclusiones generales más que particulares.

En países donde ocurren las cuatro estaciones, podría obviarse el invierno y realizar estudios que abarquen el final de la primavera, todo el verano y el inicio del otoño. En los países tropicales, es importante considerar un muestreo que incluya períodos importantes de la estación lluviosa y la no-lluviosa. Con la ayuda de un estadístico, puede determinarse la extensión apropiada del muestreo para que las conclusiones puedan ser generalizables idealmente para un período de un año. De igual forma, debe determinarse cual es la frecuencia de muestreo apropiada para el período definido. En cualquiera de los casos, debe justificarse debidamente el muestreo estadístico escogido y cuales son los alcances.

Seguidamente se procede con el trabajo de campo recopilando datos, recolectando las muestras con la frecuencia definida y por el período escogido y aplicando los análisis microbiológicos respectivos.

#### 6. Análisis y utilización de resultados y conclusiones

Una vez recopilados los datos se procede a realizar el análisis estadístico de éste, ya que el recuento para cada una de las fuentes estudiadas se expresa de forma diferente, no se recomienda realizar comparaciones entre las fuentes, al menos de que el investigador desee estandarizar las variables para que esas comparaciones sean posibles. Esta decisión debe tomarse en función del objetivo del estudio y las conclusiones que quieran obtenerse.

Para cada una de las fuentes por separado, se recomienda la realización de un análisis de varianza para determinar si el efecto simple "sitio de recolección" o "código de muestra" es significativo. Si es así, se realiza una prueba de comparación de medias para agrupar los sitios (o muestras) de acuerdo con el recuento encontrado. Esto permite, para cada fuente, determinar

cuáles muestras o sitios analizados presentaron la mayor contaminación, cuáles una contaminación intermedia y cuáles a contaminación baja, para obtener agrupaciones de sitios o muestras según el resultado observado. Si para una determinada fuente sólo se evalúan dos sitios o muestras, se podría simplificar el análisis realizando una prueba de t-student.

Una vez agrupados los sitios o muestras, y sabiendo el orden del recuento respectivo, se procede a discutir, en función del sitio o muestra del que se trate, cuáles son los que podrían representar un riesgo y cuáles no. Este análisis permite establecer recomendaciones en cuanto a mejoras y puntos de control que son críticos en cada fuente analizada.

Después de realizar el análisis para cada una de las fuentes por separado, se puede comparar la magnitud de los recuentos en promedio para cada tipo de fuente, y determinar cual de ellas contribuye más a la contaminación microbiológica del producto final. Esto también permite detectar los puntos críticos donde un control es prioritario.

En el caso de aquellos sitios o muestras que no parecieran ser críticos, es importante realizar un análisis para determinar por qué se considera que su contribución a la contaminación no es importante. Esto debe realizarse considerando la información recopilada por observación durante las visitas a la planta en cuanto a procedimientos de higiene y desinfección, sistemas utilizados de control de calidad, aplicación de las buenas prácticas de manufactura, comportamiento de los empleados y demás aspectos similares.

La información obtenida con esta estrategia para la realización de estudios de evidencia microbiológica y derivada del análisis de resultados, puede también ser utilizada para determinar las acciones correctivas que deben implementarse para que los productos elaborados en la planta, donde se realizó el estudio, sean inocuos para el consumidor. Por ejemplo, puede determinarse la necesidad de:

- aislar la planta para evitar la entrada del aire externo,
- ser más estricto en la limpieza y desinfección de una determinada superficie que entra en contacto con el alimento,
- reubicar a un operario que es portador asintomático

de un patógeno

- cambiar de proveedor de materia prima o de algún insumo y
- rediseñar alguna zona de la planta física.

Si el análisis estadístico reflejara que no existe diferencia entre ninguno de los puntos o muestras analizadas, es importante determinar si ello puede deberse a una variabilidad muy alta en los datos recopilados de un día de muestreo a otro (determinados por la frecuencia de muestreo escogida). Por ejemplo, encontrar un recuento alto en una mesa dos de los diez días en que se realizaron muestreos, y en los otros ocho encontrar recuentos bajos, puede causar que no se detecten diferencias estadísticas al realizar los análisis. Esta variabilidad debe entonces analizarse, pues de ella se puede obtener mucha información. En el ejemplo anterior, lo observado implica que el control no es adecuado, pues dos días el recuento fue muy alto pudiendo causar problemas de inocuidad en los productos que entraron en contacto con esa mesa, a pesar de que pareciera que se lleva a cabo una buena limpieza y desinfección de la mesa, pues el promedio del recuento para las diez repeticiones del análisis sería bajo.

## CONCLUSIÓN

Es claro que la información que se puede generar a partir de la aplicación de los seis pasos que se definieron en el diseño de esta metodología para realizar estudios de evidencia microbiológica, es de mucha utilidad como base para diseñar e implementar el sistema HACCP, pues dan información específica y propia del ambiente de proceso en el cual se va a trabajar. Además, la información es útil para determinar dónde están los puntos críticos de control, y si las medidas preventivas que se están utilizando son efectivas. Por otro lado, los resultados permitirían establecer acciones correctivas para las deficiencias encontradas y redactar una lista de tareas, en orden de prioridad, necesarias para garantizar la inocuidad de los productos, además de conocer qué aspectos están bajo control para no invertir esfuerzos en ellos.

Por último, se considera que la metodología aquí descrita puede también aplicarse en la realización de estudios de evidencia para peligros físicos y/o químicos. Su aplicación estandarizada en diferentes plantas provee una forma de comparación entre ellas. Esta

metodología ha sido utilizada por el autor en plantas procesadoras de cárnicos, vegetales y lácteos, para procesos de diferente naturaleza, obteniendo resultados satisfactorios tras su aplicación.

### LITERATURA CITADA

- Bean, NH; Griffin, PM. 1990. Foodborne disease outbreaks in the United States, 1973-1987: pathogens, vehicles and trends. *J. Food. Protect.* 53:711.
- Gill, CO. 1995. Current and emerging approaches to assuring the hygienic condition of red meats. *Can. J. Anim. Sci.* 75, 1-13.
- Gill, CO; Jones, SD. 1992. Current and emerging approaches to assuring the hygienic condition of red meats. *Int. J. Food Microbiol.* 15, 131-143.
- Pearson, AM; Dutson, TR. 1995. HACCP in meat, poultry and fish processing. 2 ed. Blackie Academic and Professional, Glasgow. p. 273
- Pierson, MD; Corlett, DA. 1992. HACCP: Principles and Applications. Nostrand Reinhold, New York. p. 202
- Stevenson, KE; Bernard, DT. 1995. HACCP – Establishing hazard analysis critical control point programs. 3 ed. The Food Processors Institute, Washington D.C. p. 155.