

Control microbiológico ambiental en agroindustrias de Tucumán

María de L. Dávila Costa*, Agustina M. Guerrero**, María A. Canseco***, Marcelo R. Ruiz**** y Carlos H. Gusils*****

Introducción

Las industrias alimentarias reconocen la importancia de implementar prácticas que garanticen la calidad e inocuidad de sus producciones. A tal efecto, se aplican protocolos de producción bajo las denominadas **buenas prácticas de manufacturas** (BPM) y los principios de **análisis de riesgos y puntos críticos de control** (HACCP). Así es como los procesos de elaboración y la calidad de los productos finales deben cumplir con requerimientos muy estrictos.

Cuando se habla de inocuidad de los alimentos, se hace referencia a todos los riesgos que pueden hacer que estos sean nocivos para la salud del consumidor. La calidad es un concepto determinado por la conjunción de distintos factores, relacionados todos estos con la aceptabilidad del alimento (Tessi *et al.*, 2002; Meldrum *et al.*, 2006).

El aseguramiento de calidad debe ser planeado desde el principio y debe monitorearse a lo largo de todo el proceso, realizando un control proactivo y no reactivo, anticipándose así a posibles problemas (FAO, 2003).

Los microorganismos patógenos pueden causar enfermedades a los seres humanos; es así que las bacterias patógenas son la principal causa de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA).

Las medidas de control recomendadas para evitar la proliferación de ETA incluyen una estricta revisión y vigilancia de la materia prima y de las condiciones de elaboración de un determinado producto, así como también prácticas adecuadas de higiene, limpieza y desinfección de las instalaciones de procesamiento.

Un parámetro que refleja la carga microbiana global a la que están expuestos los alimentos, es la contaminación ambiental en los establecimientos fabriles. Puesto que no existen parámetros muy claros que establezcan sus niveles aceptables, las industrias solicitan un control periódico de sus ambientes e instalaciones a fin de detectar posibles puntos de contaminación y tomar acciones correctivas en ocasiones en que estos hayan producido algún tipo de incidente.

Las principales aplicaciones del control microbiológico del aire en la industria alimenticia y empaques,

son el control de la higiene de la producción en actividad, el mantenimiento de la higiene sin actividad y el control después de la desinfección.

Este control cuantitativo del aire es una contribución útil en HACCP, al igual que las etapas de identificación y evaluación de peligros, validación y vigilancia de puntos críticos y la eficacia de las acciones correctivas.

Con el empleo de metodología adecuada, es posible seguir regularmente:

- el correcto funcionamiento de una instalación de tratamiento de aire nuevo;
- la recontaminación del aire del ambiente, ligado a la actividad interna;
- la eficacia de la limpieza y desinfección;
- la incidencia de toda modificación en la actividad, organización y ordenamiento de una sala.

El objetivo del trabajo fue analizar las diferentes metodologías de estudio de la población microbiana ambiental y determinar su importancia en la calidad e inocuidad de los productos agroindustriales.

Metodologías de muestreos ambientales

La selección de la metodología de muestreo para el análisis de la población microbiológica de un ambiente o sector de una industria se basa en ciertos criterios: objetivos para realizar el muestreo, la superficie a muestrear, los microorganismos de interés, etc.

Para realizar el estudio microbiológico de un ambiente, se pueden establecer indicadores que permiten evaluar inocuidad y calidad microbiológica. El recuento de aerobios mesófilos totales (AMT), hongos y levaduras en placa suele ser uno de los procedimientos más usados. Para el estudio de indicadores de inocuidad, se emplean microorganismos considerados patógenos e indicadores de contaminación que pueden afectar tanto la calidad de los productos, como la salud de los consumidores; por ejemplo, bacterias coliformes, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

Los recuentos de microorganismos se realizan empleando medios enriquecidos, selectivos y diferenciales, incubados en condiciones adecuadas (de tem-

* Lic. Biotec., ** Bioq., *** Becaria Estudiantil, **** Ing. Qco., ***** Dr. Bioq., Sección Química, EEAOC.

peratura, tiempo, etc.), según lo establecido en procedimientos oficiales. Recuentos altos de estos microorganismos pueden indicar ambientes contaminados por falta de limpieza, o bien tratamientos insatisfactorios que pueden contaminar la materia prima o alterar el producto.

Para llevar a cabo un monitoreo ambiental en las distintas etapas de los procesos de industrialización, pueden utilizarse las siguientes metodologías:

Hisopados y/o estriados: el muestreo se realiza en superficies de máquinas, cintas transportadoras, pisos, paredes, mesadas, envases, materia prima (por ejemplo frutas) y manos de operarios. Para esto se utilizan hisopos estériles que se frotran sobre la superficie a controlar, y luego se siembran directamente por estriado sobre placas de Petri con medio adecuado, para estudiar microorganismos contaminantes (coliformes totales, *Escherichia coli*, etc.). Se utiliza un segundo hisopo que se coloca en agua peptona 0,1% estéril y se transporta en condiciones de refrigeración hasta el laboratorio para realizar el recuento de AMT, hongos y levaduras.

Esponjados: se utilizan cuando se necesita determinar la presencia de microorganismos patógenos en una superficie mayor. Se frotran las superficies a analizar con esponjas estériles embebidas en solución fisiológica o agua peptona estéril, que luego son colocadas en medios de enriquecimiento para el estudio de los microorganismos.

Sedimentación: se utilizan placas de Petri con medio de cultivo para el estudio de microorganismos (AMT, hongos, levaduras, etc.) en zonas seleccionadas para el muestreo. Luego de un tiempo determinado (uno, quince y treinta minutos, por ejemplo), se recogen las placas y se procesan según las técnicas analíticas microbiológicas.

Filtración: consiste en pasar un volumen adecuado de aire a través de una placa de medio de cultivo o membrana, la cual luego se coloca en placas con medios de cultivo adecuados para el crecimiento de los microorganismos que se desean determinar.

Aplicación de controles ambientales en industrias

El personal del Laboratorio de Microbiología de la Estación Experimental Agroindustrial Obispo Colombres (EEAOC) comenzó a realizar actividades de capacitación y adiestramiento en temas referidos a estudios ambientales microbiológicos. La principal finalidad fue lograr una mayor interacción con las industrias, principalmente brindando apoyo en el control del proceso productivo.

Se realizaron diversas actividades en industrias de la provincia de Tucumán:

- Análisis de la eficacia de los procesos de higienización de manos de operarios y desinfección de sectores de trabajo.

- Verificación de medidas de control en los **puntos críticos de control** (PCC) establecidos en sistemas HACCP para el control de la inocuidad de los alimentos.

- Seguimiento microbiológico ambiental de procesos industriales y estudios de contaminación microbiológica del producto elaborado.

- Estudios de presencia de microorganismos potencialmente patógenos en sectores del proceso.

Análisis de la eficacia de los procesos de higiene y desinfección

A) Superficie de trabajo

Mantener en estado higiénico las superficies con las que contactan la materia prima y productos tiene suma importancia para una aceptable calidad microbiológica. Las superficies de contacto son muchas veces focos de contaminación donde puede encontrarse una gran cantidad de microorganismos que pasarán al producto durante su elaboración.

Por ejemplo, en la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos para el recuento de aerobios mesófilos totales (AMT), hongos (H) y levaduras (L) de hisopados realizados a cajoneras de una citrícola, antes y después de su proceso de desinfección. Dichos hisopados se llevaron a cabo una vez por mes durante tres meses consecutivos, con el objetivo de seguir el proceso de saneamiento de las cajoneras.

Tabla 1. Estudio de la eficacia del proceso de desinfección de cajoneras de un empaque citrícola. Determinación del recuento (UFC/10 cm²) de AMT, hongos y levaduras en muestras de hisopados. Tucumán, 2009.

Recuento de microorganismos (UF C/10 cm ²) en cajoneras de un empaque citrícola, Tucumán, 2009																			
Parámetros analizados	Cajonera externa									Cajonera interna									Promedio de la eficacia por microorganismos
	Muestreo 1			Muestreo 2			Muestreo 3			Muestreo 1			Muestreo 2			Muestreo 3			
	A	D	Ef	A	D	Ef	A	D	Ef	A	D	Ef	A	D	Ef	A	D	Ef	
AMT	300	0	100	180	0	100	300	150	50	0	0	100	320	70	78	1730	410	76	84
Hongos	160	0	100	150	0	100	240	0	100	0	0	100	300	0	100	540	120	78	96
Levaduras	0	0	100	0	0	100	40	80	-100	0	0	100	0	0	100	160	30	81	64
	100			100			17			100			93			78			91
Promedio de la eficacia por muestreo																		Eficacia total	

(A): antes y (D): después del proceso de desinfección. Ef: eficacia.

Es importante destacar la ausencia de microorganismos patógenos como coliformes totales y *Pseudomonas aeruginosa* al analizar las muestras, por lo que no se detallan en la tabla.

En la tabla antes mencionada se puede observar que en la mayoría de los muestreos, se obtuvieron valores de recuentos de microorganismos mayores en las muestras de las cajoneras internas, con excepción del muestreo 1, donde no se detectó el desarrollo de colonias (antes y después del proceso de desinfección). Estos valores se deben, principalmente, a que las cajoneras internas están sometidas a un mayor flujo de operarios. Se obtuvo una elevada eficacia del proceso (en general 91%), teniendo en cuenta todos los valores. En particular, se obtuvo un 96% de eficacia en la eliminación de hongos, lo que es de suma importancia en las industrias de empaques de cítricos, debido a que algunos géneros de hongos como *Penicillium*, tienen la capacidad de dañar la fruta.

En los muestreos de superficies realizados en fábricas, se observó que en algunos casos los valores de recuento de microorganismos obtenidos después del proceso de desinfección se incrementaban entre un 20% y 100% con respecto a los valores basales, como lo obtenido en el muestreo 3 de las cajoneras externas para levaduras, donde se obtuvo un incremento de 100% (Tabla 1). Estudios de las causas de este fenómeno determinaron que es muy importante realizar este proceso con los elementos adecuados, controlando la concentración, el tiempo y modo de aplicación del desinfectante y el estado del trapo para la limpieza, entre otros factores.

B) Manos de operarios

Un alimento puede estar contaminado desde su origen, o bien puede ser el manipulador quien lo contamine durante el procesado. Por eso, es importante realizar el control microbiológico de las manos de los operarios y determinar la eficacia de su higienización.

En la Figura 1, se observa que existe variación en la eficacia del proceso de lavado de manos en lo que respecta a la reducción de la presencia de microorganismos, principalmente aerobios totales y hongos. Sin embargo, en algunos casos se obtuvieron valores mayores después del lavado. Las posibles fuentes de contaminación con microorganismos en estos casos, son: 1) jabones, principalmente en pan, o la baja periodicidad en el cambio del contenido de los “dispensers” de jabones líquidos; 2) elementos no aptos para el secado de manos, como ser toallas o repasadores sucios, delantal o ropa; 3) sistemas no automáticos de dispensación de agua. Se informó a las empresas acerca de estos resultados, y estas introdujeron modificaciones para solucionar estos problemas.

Verificación de medidas de control en los puntos críticos de control (PCC) establecidos en sistemas HACCP para el control de la inocuidad de los alimentos

Realizando una evaluación microbiológica del proceso, se puede evidenciar la verificación de las medidas de control de los PCC establecidos dentro de un proceso industrial. Este control se puede llevar a cabo analizando muestras antes y después del PCC, estableciendo relaciones entre los valores obtenidos.

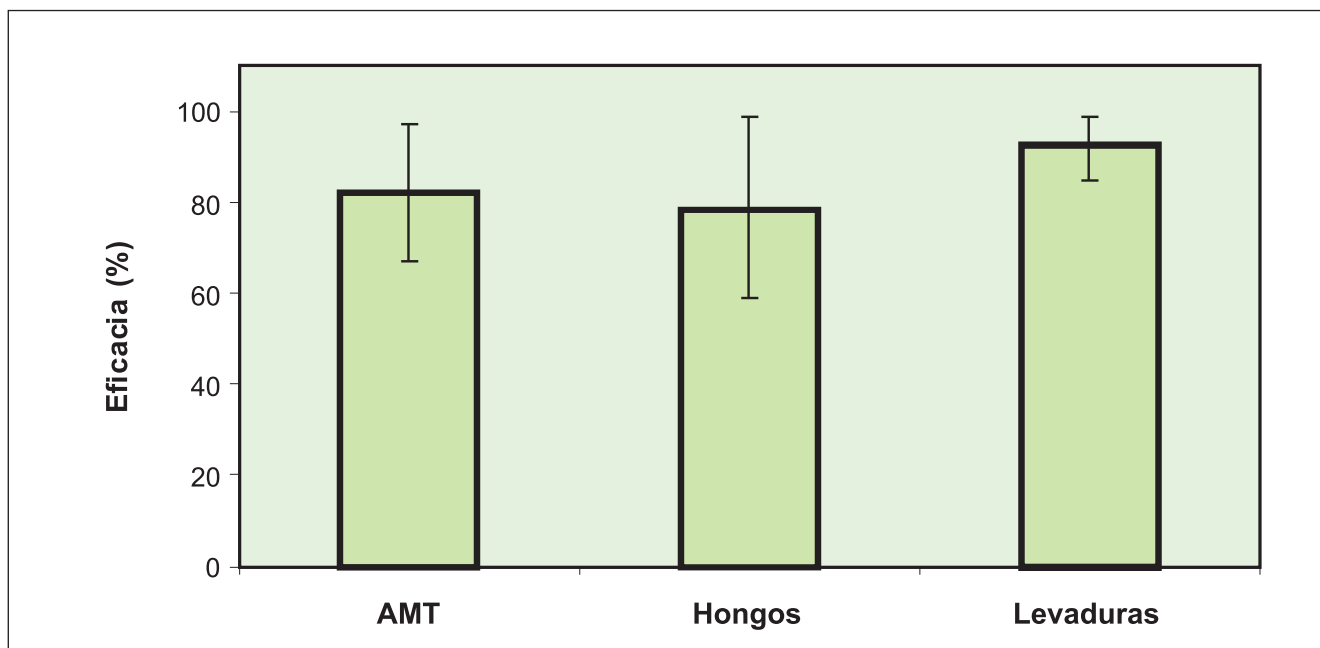


Figura 1. Análisis de la eficacia del proceso de lavado de manos de operarios de empaques cítricos para el control de AMT (aerobios mesófilos totales), hongos y levaduras. Tucumán, 2009.

Las determinaciones se realizan directamente sobre muestras obtenidas del proceso industrial, o realizando ensayos en el laboratorio a escala industrial: la muestra de ingreso se inocula con microorganismos patógenos de interés y se analiza después del PCC (respetando tiempo de residencia de la fruta, concentración de sustancia desinfectante empleada, dimensiones de piletas utilizadas, etc.). Estas tareas deben realizarse bajo medidas adecuadas de bioseguridad, ya que se trabaja con microorganismos considerados patógenos para el hombre.

Seguimiento microbiológico ambiental

El aire es un medio importante y heterogéneo, que contiene en suspensión partículas de diámetro, masa y velocidad variables; aun en muestreos consecutivos, se encuentran fluctuaciones en el recuento de microorganismos. Es por ello, que ninguna norma actual define un valor de referencia o el valor crítico para la contaminación microbiológica del aire, ni para un sector de alguna actividad conocida, ni para la caracterización de instalaciones con control de partículas. Por ende, el nivel de calidad microbiológica del aire requerido se determina en cada caso particular y en cada una de las fases críticas identificadas.

Es importante analizar el proceso industrial con la finalidad de controlar posibles peligros (físicos, químicos y microbiológicos) que pudieran afectar la calidad e inocuidad de los alimentos. En muchos de los casos, a pedido de determinadas plantas fabriles, se realizaron visitas para estudiar factores de contaminación de sus productos. Por ejemplo, en la industria azucarera es importante el recuento de microorganismos mesófilos totales, hongos y levaduras en el azúcar elaborado, teniendo en cuenta los valores de aceptación solicitados por otras industrias alimenticias. A partir del año 2008 se realizó un seguimiento microbiológico de ambientes industriales, detectando focos de contaminación microbiológica determinada principalmente por levaduras. Al analizar sus posibles causas, se evidenció el efecto de las condiciones ambientales sobre la calidad microbiológica del producto. Además, se determinó en algunos casos, que se debería mejorar la estructura edilicia con la finalidad de prevenir contaminaciones cruzadas a partir de sectores considerados sucios, o que el tipo de proceso que se lleva a cabo sirve como una importante fuente de contaminación.

Posteriormente, se visitaron nuevamente las plantas industriales con la finalidad de medir la eficacia de las modificaciones realizadas, evaluando el recuento de microorganismos tanto en ambientes como en productos. Se pudo evidenciar una mejora en la calidad de los azúcares analizados y una disminución del recuento de levaduras en las muestras ambientales.

La planificación del muestreo depende de los objetivos que necesiten cumplir las industrias y consiste principalmente en el estudio de las condiciones

ambientales de diferentes puntos de los sectores de proceso mediante técnicas de sedimentación y filtración. Se realiza principalmente en puntos estratégicos en donde las industrias tuvieron que incorporar y aplicar conceptos relativos a calidad e inocuidad de sus productos en sus procesos de manufactura, a fin de garantizar la seguridad y aptitud del alimento, exigidas por las normas internacionales que regulan su elaboración y comercialización.

Es importante tener en cuenta los resultados obtenidos en el recuento de microorganismos ambientales, tanto por la técnica de sedimentación, como por la de filtración. En la Figura 2, se puede observar que no existen diferencias marcadas en el recuento de AMT y hongos obtenidos por ambas técnicas en los tres sectores industriales, en diferentes días. Las empresas emplean estos valores para obtener líneas de bases para el estudio microbiológico ambiental, lo que les permitirá evaluar los puntos de contaminación microbiológica, su relación con la contaminación del producto, y la incidencia de modificaciones del proceso y edilicias sobre la calidad e inocuidad del producto.

Estudios de presencia de microorganismos potencialmente patógenos en sectores del proceso

Se recomienda realizar el estudio de presencia de microorganismos patógenos en conjunto con el estudio de calidad de los procesos. Para estas determinaciones se emplean las metodologías detalladas anteriormente, dependiendo de la muestra y superficie a analizar.

La persona que va a manipular un alimento tiene una carga microbiana que forma parte de la flora normal de la piel, pero es importante destacar que nunca se deberían aislar de ella microorganismos patógenos. Es por ello que sumado a la determinación de AMT, hongos y levaduras, se determinan también bacterias coliformes totales y *Staphylococcus aureus*, que es una bacteria que a pesar de encontrarse como flora normal en piel, presenta serotipos productores de toxinas que pueden provocar casos graves de intoxicación alimentaria. En escasas muestras de hisopados de manos se detectó la presencia de microorganismos patógenos (coliformes, *S. aureus*), debido a un deficiente sistema de lavado de manos y a la falta de capacitación del personal.

Durante el proceso industrial, los alimentos están en contacto con diferentes superficies que pueden estar contaminadas y ser focos de transmisión de microorganismos. Por lo tanto, es importante analizar la presencia de bacterias coliformes y de *Pseudomonas aeruginosa*. En algunas superficies se detectó la presencia de estos microorganismos, debido principalmente a procesos deficientes o a la falta de limpieza de las superficies.

En los ambientes industriales, no se detectó desarrollo de microorganismos patógenos (enterobacterias, coliformes, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* spp.) por técnica de filtración.

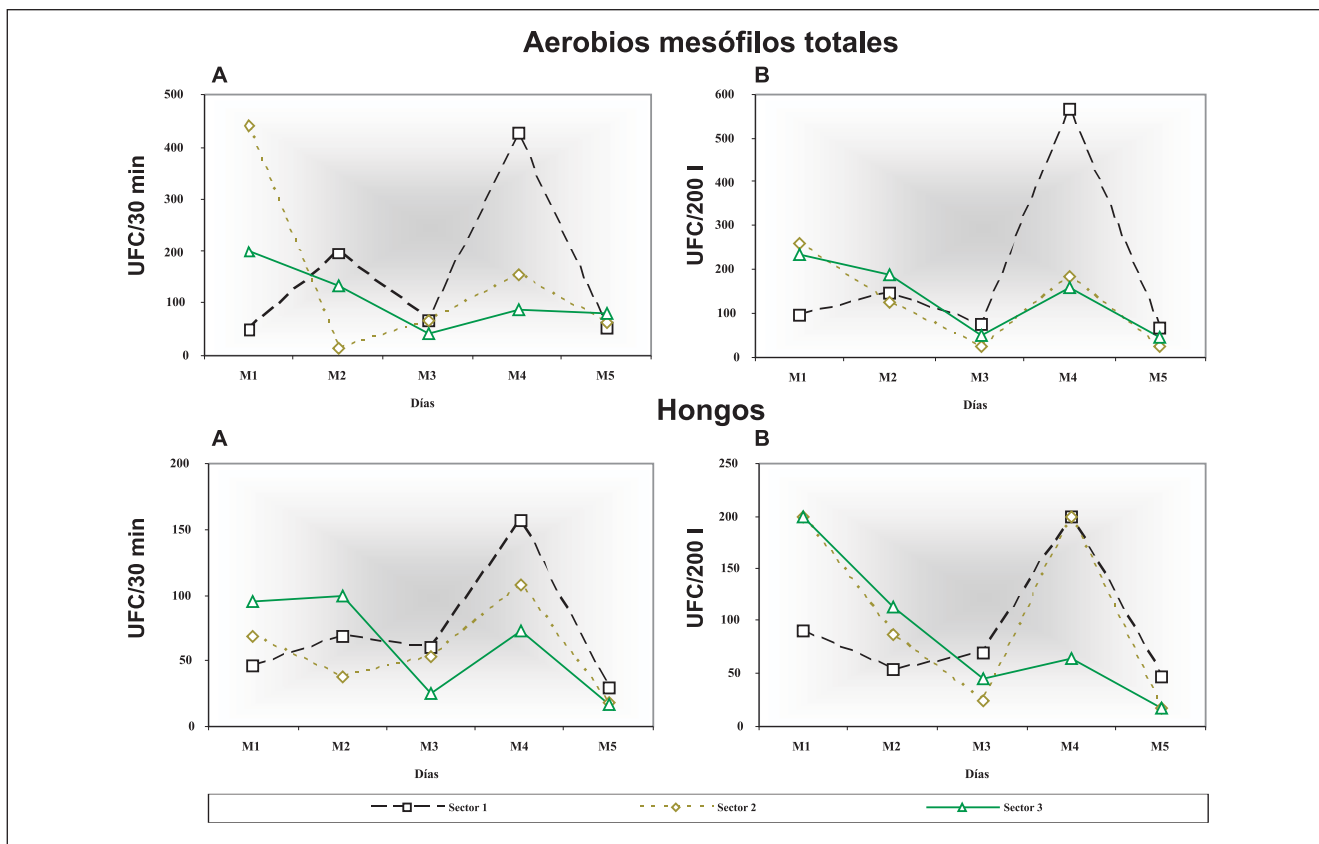


Figura 2. Estudio comparativo del recuento ambiental de AMT y hongos (A: sedimentación; B: aire por filtración), realizado en sectores industriales de un empaque de limones durante el año 2008. M: muestreos.

Consideraciones finales

Además de presentar las bases sobre las que se sustenta el enfoque preventivo, este trabajo pretende mostrar algunas experiencias realizadas en el Laboratorio de Microbiología en apoyo a la industria, para lograr productos alimenticios de calidad e inocuos. Estas experiencias consistieron en evaluar las condiciones de limpieza y desinfección que se llevan a cabo en los procesos de elaboración. Asimismo, se seleccionaron puntos para el muestreo microbiológico, advirtiendo a las empresas sobre posibles fuentes de contaminación y mostrándoles cómo evitarlas.

Es importante controlar diferentes aspectos de los procesos de industrialización para evitar el desarrollo de microorganismos no deseados que puedan afectar la calidad e inocuidad del producto o el rendimiento en la producción. El establecimiento de bacterias adheridas a los alimentos o a las superficies con las que estos entran en contacto, conlleva serios problemas higiénicos y numerosas pérdidas económicas, pues los productos que presentan microorganismos patógenos causantes de enfermedades deben desecharse inmediatamente.

Bibliografía citada

- Food and Agriculture Organization (FAO). 2003.** Gestión de riesgos biológicos en la alimentación y la agricultura: ámbito de aplicación e importancia. Consulta técnica sobre la gestión de riesgos biológicos en la alimentación y la agricultura. Bangkok, Tailandia, 13-17 de enero 2003. [En línea]. Disponible en ftp://ftp.fao.org/esn/food/tc_bangkok/final_report_es.pdf. (consultado 26 mayo 2011).
- Meldrum, R. J.; R. M. Smith; P. Ellis and J. Garside. 2006.** Microbiological quality of randomly selected ready-to-eat foods sampled between 2003 and 2005 in Wales, UK. *Int. J. Food Microbiol.* 108: 379-400.
- Tessi, M. A.; E. E. Aringoli; M. E. Pirovani; A. Z. Vincenzini; N. G. Sabbag; S. C. Costa; C. G. Garcia; M. S. Zannier; E. R. Silva and M. A. Moguilevsky. 2002.** Microbiological quality and safety of ready-to-eat cooked foods from a centralized school kitchen in Argentina. *J Food Prot.* 65 (4): 636-642.