

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

EVALUACIÓN DE HIGIENE POR MÉTODOS RÁPIDOS

O. Velázquez Madrazo, K. Rivera y J. Alarcón

Uno de los factores principales para asegurar la inocuidad de los alimentos es la higiene del equipo y superficies que están en contacto con los productos, en las plantas industriales. Por ello, se han desarrollado métodos rápidos para evaluar la higiene del equipo antes de iniciar la producción de cada lote en la industria alimentaria.

Un grupo de estos métodos rápidos, se basa en la determinación de ATP residual de microorganismos o alimentos, mediante la reacción de bioluminiscencia que ocurre en las luciérnagas (Felman, 2000):



El método consiste en tomar una muestra de la superficie en evaluación mediante hisopo. A continuación, el hisopo se coloca en el recipiente de fábrica y se “activa” la reacción, rompiendo la membrana que separaba el hisopo nuevo de los reactivos (extractante, luciferina y magnesio). Al ponerse en contacto el ATP con los reactivos, se genera luz que puede medirse en el aparato, en este caso, el *3M™ Clean Trace™*. También se pueden usar esponjas para muestrear la superficie y en ese caso se emplea un “*hisopo para líquidos*”, que absorbe una cantidad determinada del líquido exprimido de la esponja y luego se activa del mismo modo. Este “*hisopo para líquidos*” también puede usarse para muestrear directamente el agua del último enjuague.

En todos los sistemas basados en esta reacción, la luz emitida por la muestra se mide mediante escalas arbitrarias que se estandarizan para que el usuario pueda tomar decisiones en cada industria particular, a partir de los resultados.

El proceso de evaluación de higiene se ha estandarizado prácticamente en todos los equipos para muestrear áreas de 100 cm² (10x10 cm) con un hisopado de 10 trazos en un sentido y otros 10 trazos en sentido perpendicular.

En el sistema *3M™ Clean Trace™* la emisión de luz se registra en “unidades relativas de luz” (RLU por sus siglas en inglés) y se establecen los siguientes límites generales de aceptación / rechazo:

- Las superficies se consideran limpias si la lectura es <150 RLU
- Se interpreta como precaución de 150 a 299 RLU
- Se considera no-aceptable un resultado > 300RLU (3M, 2005).

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

Objetivo:

Aplicar la detección de ATP por bioluminiscencia para evaluar la higiene de una superficie.

Material para el grupo:

Dos tablas para picar
Dos mesas del laboratorio
10 Plantillas de opalina o cartulina de 12x12 cm, con recuadro interno de 10x10 cm², **previamente esterilizadas.**
10 Hisopos de 3MTM (pueden ser de superficie o para líquidos)
Clean TraceTM

2 manojos de cilantro
2 cuchillos con buen filo
Detergente lavatrastes
4 esponjas
Desinfectante de uso en alimentos y recipiente para prepararlo

Equipo:

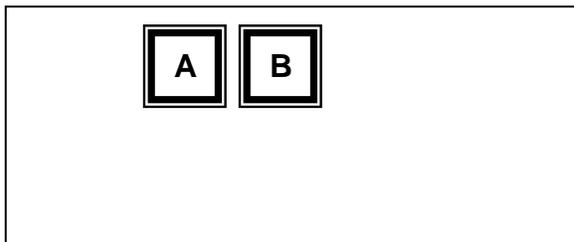
Luminómetro 3MTM UNI-LITETM.

Diseño general del experimento

a) Para hisopos de superficie

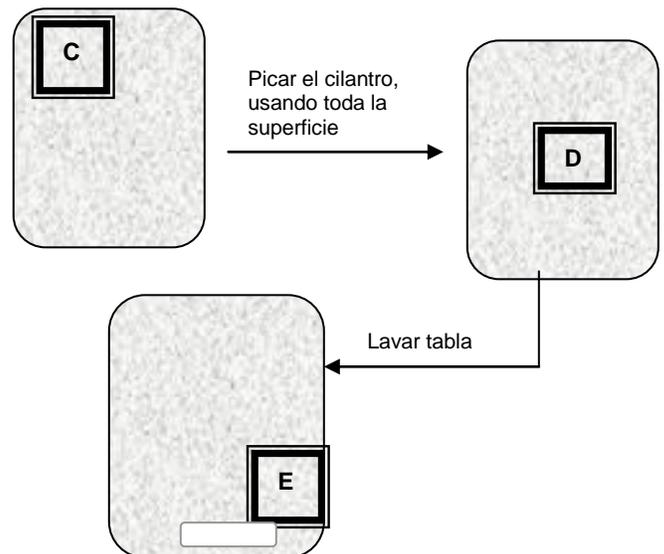
Dado que contamos con un número limitado de hisopos, se sugieren las siguientes pruebas, por duplicado y llevando a cabo una prueba, cada equipo. Conviene hacerlas en orden para que todos vean cada resultado.

- A. Directamente de la mesa del laboratorio
- B. De la mesa del laboratorio lavada



Conviene señalar que el muestreo de la tabla después de picar el cilantro se hace únicamente con fines didácticos ya que en la práctica, no se hace la evaluación en una superficie que tiene residuos o suciedad visibles.

- C. Tabla de picar como está
- D. Tabla después de picar
- E. Tabla lavada después de picar



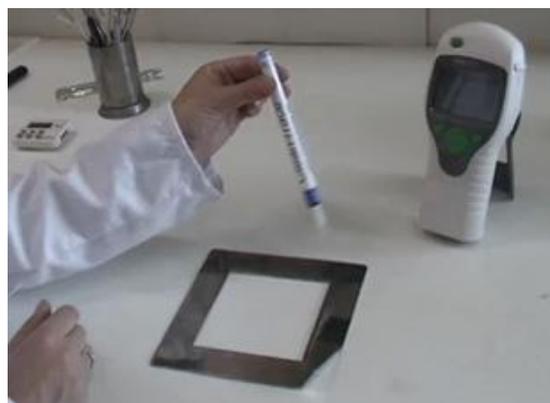
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

Muestreo :

0. Encender el Luminómetro y dejar que lleve a cabo su autocalibración; el aparato indica cuándo está listo.
1. Colocar la plantilla en la superficie a muestrear, abrir el hisopo y tomar la muestra mediante 10 trazos verticales y 10 horizontales en es espacio libre dentro de la plantilla, como muestra la figura de la derecha.



2. Introducir el hisopo a su estuche, cerrar y presionar hacia abajo para liberar la solución de reactivos de la reacción de bioluminiscencia; agitar lateralmente 5 veces. La muestra es estable hasta 30 min antes de activarla; una vez activado el hisopo, debe hacerse la lectura antes de 1 min.



3. Introducir el hisopo al luminómetro, cerrar la tapa, presionar el botón de lectura y registrar el dato. El equipo puede almacenar una gran cantidad de lecturas cuando se ha diseñado un plan de muestreo y pueden descargarse a una PC.



LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

4. Una vez registrados todos los datos, interprete los resultados utilizando la escala de la página 1 y comenten los resultados.

b) Para hisopos de líquidos

La diferencia radica en que este tipo de hisopos, en vez de un recubrimiento fibroso en el extremo, para recoger los residuos en la superficie muestreada, tiene un diseño especial para que al sumergirlos en líquido, se llenen con exactamente 500 μL .

En este caso, se harán las siguientes determinaciones:

- F. Enjuagar la mesa de trabajo sin lavar
- G. Enjuague de la mesa de trabajo después de lavar
- H. Enjuague de una tabla o utensilio sin lavar
- I. Enjuague del piso
- J. Enjuague de la tapa del bote de basura

Usualmente se aplican al agua de enjuague del equipo, especialmente el que se sanitiza con método CIP (cleaning in place). Cuando se analizan superficies, es necesario recolectar el agua de enjuague en un recipiente limpio, por ejemplo un vaso de pddos o bien muestrear con esponja estéril o torunda de algodón impregnada en agua estéril; se exprimen en un vaso limpio y luego se sumerge el hisopo en el líquido durante 3 ó 4 seg.

Se regresa el hisopo a su estuche, se activa, se agita lateralmente 5 veces y se toma la lectura.

Otros objetos que se pueden muestrear con fines didácticos (no se acostumbra hacerlo en la industria) son: el piso, teléfonos celulares, manijas de puertas directo y después de limpiar con toallitas desinfectantes, etc.

Bibliografía:

Felman P. et. al. 2000. Bioluminiscencia. Empresa Axonas. Disponible en internet en: www.axonas.com.ar

Hansen, D. Hilgenhoer M. W. Poop. 2007. ATP bioluminescence –for kitchen hygiene and Cleaning control of surgical instruments. International Journal of Infection Control. University Hospital, Essen, Germany. 2007 Disponible a través de internet en: <http://www.ijic.info/article/viewPDFInterstitial/3036/2220>

3M. Microbiology. 2008. Technical Bulletin. An overview of Rapid Hygiene Testing Using ATP Bioluminescence. EUA.

3M. 2005. Manual técnico del sistema de evaluación de higiene Biotrace. UK.