ANALISIS MICROBIOLOGICO DE AMBIENTES, EQUIPOS, SUPERFICIES, Y MANIPULADORES

Las superficies de los recipientes y del equipo con los que entran en contacto el alimento, deben estar limpias y relativamente libres de bacterias, mohos y levaduras. Los términos esterilidad y esterilización, según se aplican al equipo para recolectar muestras y a los aparatos usados en la mayoría de los procedimientos de laboratorio, se usan en su verdadero sentido con muy pocas excepciones. Para evitar malas interpretaciones se utilizan los términos, higienización, sanidad y pruebas sanitarias, en vez de los términos esterilidad y pruebas de esterilidad para identificar los procedimientos que usan para medir la contaminación bacteriana residual después de la higienización práctica del equipo usado en las fábricas para manipular alimentos. Por regla general conviene llevar un control de todas las pruebas y verificar todas las determinaciones para ver si se han usado técnicas asépticas. Deben efectuarse controles periódicos (no menos de una vez por trimestre sobre la contaminación del aire). Para manipuladores se debe hacer control semanal o quincenal.

1. SUPERFICIES Y EQUIPOS

1.1. Envases y envasado

1.1.1. Condiciones requeridas de los materiales de envasado: la principal m1s1on del envasado es contener al alimento y protegerlo de la pérdida de la calidad, debida a la actividad de microorganismos pestes y de los cambios inducidos química o físicamente. Los materiales de envasado deben ser higiénicos, inodoros, inertes e incapaces de reaccionar con el alimento y la atmósfera que los rodea. Deben proteger de la entrada de microorganismos, a veces se necesita que los materiales empleados excluyan el aire y agua.

1.1.2. Principales tipos de materiales de envasado y envases: el tipo de material a usar depende del tipo de proceso, condiciones de almacenamiento final y propiedades del producto.

- Vidrio: son los mejores, permiten fácil limpieza y reutilización; desventaja: se pueden romper.
- Películas de plástico: para carnes juega papel importante si esta película es permeable o impermeable a agua y oxígeno. Materiales: polietileno y cloruro de polivinilo (PVC), nitrocelulosa y cera, multicapas etc.
- Envases plásticos: son desechables, insuflados y por lo general vienen estériles.
- Latas: de lámina de acero recubierta con estaño, resistente a tratamientos térmicos altos, se recubren con barnizado en su capa interna para evitar reacciones entre recipiente y contenido. El barniz dependerá del pH y del tipo de alimento a procesar. Las latas de aluminio resisten a tratamientos térmicos altos, pero carecen de rigidez y pueden sufrir corrosión. Se hacen laminados para evitar corrosión y dar más rigidez.
- Cartón: son frecuentemente parafinados, el pergamino vegetal, los papeles impermeables a la grasa, los glaseados. También son usados con recubrimientos de aluminio y multicapas como el tetrapack.

1.1.3. Aspectos generales de los materiales de envasado: los materiales para envasado son una fuente insignificante de microorganismos solo ocasionalmente se han aislado en pequeño número dado que las superficies de la mayoría de estos materiales son lisos e impenetrables a los mismos. Las latas y botellas deben enjuagarse con agua corriente y fría, e incluso esterilizarse antes del llenado. Muchos envases ya vienen estériles. El número de bacterias por lata no supera los 100/lata. En las películas de plástico los envases están libres de microorganismos ya que se destruyen por su hechura. El cartón sufre deshidratación a temperaturas de 100ºC ± por lo que solo algunas bacterias esporuladas sin interés pueden sobrevivir. La protección ejercida por el envase depende del cierre y de la operación de cerrado. Las máquinas de cerrado de envases son fundamentales para lograr una buena calidad del producto.

1.1.4. Almacena miento de los envases: de modo que evite su contaminación. Los tarros y botellas de vidrio, latas y bandejas de hoja de aluminio deben conservarse en su paquete original hasta el momento de su empleo, evitando humedad en su almacenamiento. Los envases flexibles (plástico) también se almacenan en sus paquetes originales hasta su uso. Debe haber un sitio especial para almacenamiento. Los botes o envases sobrantes del envasado deben guardarse en sus paquetes adecuadamente.

1.1.5. Toma de muestra: método de solución de enjuague.

- Envases de pared rígida con tapa: tomar 3 envases de la banda trasportadora antes de llegar a las válvulas de llenado e introducir 20 ml de solución de Peptona de Caseína-Lecitina Polisorbato, PLP 1% a cada uno. Colocar el envase nuevamente en la banda para que sea sellado o tapado.
- Envases de más de 4 litros: agregar 100 ml de solución de enjuague. Agitar vigorosamente 10 veces en una línea vertical de 20 cm. Voltear el envase en ángulo de 90º y repetir el tratamiento horizontalmente girando vigorosamente 20 veces en cirulo pequeño con eje largo en posición vertical, enseguida invertirlo y repetir.
- Envase de pared rígida sin tapa: (papel, lámina, plástico). Tomar 3 envases después de sanitización que hayan sido sellados vacíos. Limpiar la superficie lateral con al color e introducir 20 m i de la solución PLP con una jeringa. Cerrar la perforación con cinta pegante y agitar según lo anterior. Envases de pared flexible: tomar bolsas vacías selladas e inyectar 20 ml de solución PLP. Tapar con cinta pegante. Colocar la bolsa sobre superficie plana, limpia y firme. Con tijeras estériles cortar un extremo del envase para obtener su contenido.

1.1.6. Siembra, recuento en placa y reporte

- Método solución de enjuague: si se siembra 1 m i de la solución de enjuague se cuentan todas las colonias y se reporta como UFC/ m i de solución de enjuague, o se multiplica el total de colonias por los mi usados de solución de enjuague. Ej: se usaron 20 ml de solución de enjuague, por lo tanto, la cantidad de colonias encontrada se multiplica por 20 y se informa UFC/envase.
- Método de superficie por contacto (escobillón): si se siembra 1 ml de solución de enjuague se cuentan todas las colonias y se reporta UFC/área aproximada interna del envase (valor del área) o reportar como UFC/ml.

1.1.7. Normatividad y parámetros: estos parámetros son una guía de lo que podría usarse, pero cada fábrica puede estipular los suyos según estudios propios o conveniencia.

- Método de superficie por contacto (escobillón)

  AM: Máx 100 UFC/área interna del envase ó ml
  CT: < 10 UFC/área interna del envase ó ml
  M y L: Máx 50 UFC/área interna del envase ó ml
- Método de solución de enjuague

  AM: < 10 UFC/ml
  Máx 100 UFC/envase analizado
  CT: < 1UFC/ml
  Máx 10 UFC/envase analizado
  MyL: < 10 UFC/ml
  Máx 50 UFC/envase analizado

1.2. Equipos

Los equipos recogen suciedad y acumulación de microorganismos debido básicamente a 3 razones:

- Contaminación del ambiente: en la planta la contaminación del ambiente debe ser controlada para evitar sedimentación de esta en los equipos, sobre todo en mesones o áreas horizontales donde va a entrar en contacto esta superficie con el alimento.
- Procesos inadecuados de limpieza y desinfección: hay equipos que es necesario su desmonte completo para garantizar una limpieza y desinfección completa. Ej: despulpadoras, descremadoras. Otro aspecto a tener en cuenta es que cuando se haga la limpieza CIP los equipos deben tener las especificaciones necesarias para implementar este procedimiento.
- Uso inadecuado o falta de detergentes y desinfectantes. A veces se utilizan detergentes o desinfectantes que no son los adecuados para retirar la suciedad. O en los ciclos CIP solo se usan Jos detergentes sin usar desinfección final con desinfectantes.

1.2.1. Toma de muestra

- Método de solución de enjuague (Equipos instalados): para equipos de limpieza CIP. Un volumen de agua tratada y neutralizada se agrega al tanque de almacenamiento para ser bombeada y pase por la instalación 20 veces. La muestra se toma en los sitios de descarga del principio, de la mitad y del final del sistema, o también de diferentes puntos de la instalación. Se debe obtener una muestra control de 1 litro de agua tratada antes de hacer el enjuague. Se siembra en placa.
- Método de superficie por contacto: se puede realizar mediante tórula o contacto directo como el Petrifilm. El método de tórula es apropiado para las áreas que son de difícil limpieza, como ángulos y superficies rugosas. Los métodos de contacto directo (como Petrifilm) sirven cuando se requiere un control rápido y aproximado de la contaminación, ya que no suelen ser tan exactos como el método de tórula.

1.2.2. Normatividad y parámetros: estos parámetros son una guía de lo que podría usarse, pero cada fábrica puede estipular los suyos según estudios propios o conveniencia.

- Método de superficie por contacto

  AM: Máx 100 UFC/100 cm^2 (tórula) ó 30 cm^2 (Petrifilm)
  CT: < 10 UFC/100 cm^2 (tórula) ó 30 cm^2 (petrifil m)
  M y L: Máx 50 UFC/100 cm^2 (tórula) ó 30 cm^2 (petrifilm)

- Método de solución de enjuague

  AM: Máx 100 UFC/ml
  Máx 500 UFC/total de sistema muestreado
  CT: < 10UFC/ml
  Máx 50 UFC/total de sistema muestreado
  MyL: Máx 50 UFC/ml
  Máx 100 UFC/total de sistema muestreado

2. ANALISIS DE AIRE

El aire actúa como fuente de contaminación en la industria aportando una flora variada de microorganismos dependiente del ambiente que rodea la planta, la circulación de aire y la higiene general.

Los microorganismos en el aire son esporas de hongos, bacterias esporógenas y levaduras. También hay que tener en cuenta la entrada de polvo (accesos) y de moscas u otros insectos que llevan en su cuerpo en general gérmenes.

Como ya se ha mencionado estos microorganismos se pueden depositar en equipos y superficies horizontales que pueden llegar a estar en contacto con el alimento, de allí la importancia de su control, eso sin contar la contaminación que se puede generar por ellos en las áreas de envasado.

El método más usado y sencillo para la medición es el de sedimentación, donde se dejan las cajas destapadas con medio en sitios específicos críticos de la planta por un término determinado. Las bacterias, esporas y levaduras que circulan en el aire van cayendo a la caja por sedimentación durante este tiempo. Se puede usar en vez de cajas el Petrifilm u otro similar.

Otro método que actualmente se está introduciendo es el uso de equipos especializados que permiten succionar una cantidad de aire especificado por minuto.

2.1. Procedimientos prácticos para desinfección de ambientes

Los ambientes en plantas pueden ser controlados por varias técnicas o métodos, con la finalidad de disminuir la carga microbiana:

- Luz ultravioleta en aire acondicionado o áreas de envasado: se pueden colocar dentro de los ductos de aire o cerca de las persianas de salida, hay que tener en cuenta la vida útil de estas lámparas ya que no es muy larga, por lo que saldría costos. En las áreas de envasado se debe de tener bien aislada y no se puede usar esta luz si hay operarios en el envasado
- Filtros de papel, guata, mallas plásticas o similares en la salida de los aires acondicionados:

deben ser cambiados con cierta frecuencia y pueden disminuir la vida útil del aire acondicionado.

- Dispersión de sustancias químicas microbicidas con bombas de espalda (manuales o mecánicas) y nebulizadores: este método requiere de equipos de protección para el operario (principal mente en bombas de espalda), no se puede aplicar cuando la planta está en operación. Normal mente se usa para el área de envasado.
- Bombas de permanganato con formol: son bastante tóxicas lo que requiere equipos de protección adecuados. Solo se puede aplicar cuando la planta va a cesar su producción por mínimo 2 días ya que el efecto es progresivo y residual aproximadamente por este tiempo.

2.2. Normatividad y parámetros

Estos parámetros son una guía de lo que podría usarse, pero cada fabrica puede estipular los suyos según estudios propios o conveniencia.

- Método tradicional de sedimentación (depende del diámetro de la caja y el tiempo).

  A M: Max 50 U FC/60 cm por 15 minutos (caja mediana ó Petrifilm)

  MyL: Máx 10 UFC/60 cm2 por 15 minutos (caja mediana ó Petrifilm)

3. CONTROL DE MANIPULADORES

Para hacer un control eficaz de manipuladores se real izan los siguientes análisis:

3.1. Frotis de garganta

La finalidad es determinar ausencia al hacer coloración de Gram, de estreptococos (del grupo B que causan amigdalitis y enfermedades dérmicas), cocos y diplococos (gonococos causantes de faringogonorrea). De esta forma se puede saber el estado de salud y si es necesario tratamiento y retiro de labores mientras controla y elimina esas infecciones. En medios como el agar sangre se puede observar la α o β hemólisis.

Hemolisis α: destrucción incompleta de eritrocitos con formación de halos alrededor de la colonia con pigmento verde.

Hemolisis β: destrucción completa de eritrocitos con liberación de hemoglobina. Se forman halos transparentes alrededor de la colonia.

No hemolíticos: no hay formación de halos alrededor de la colonia.

3.1.1. Toma de muestra: las muestras son tomadas con escobillón humedecido frotando el área posterior de la boca, específicamente las amígdalas. Este frotis se siembre en agar sangre.

3.1.2. Observación en agar sangre: después de la incubación se observa la morfología macro y microscópica de las colonias para poder identificar presuntivamente algunos microorganismos patógenos que no deberían estar en la garganta.

- *Corynebacterium diphteheriae*: agente causal de la difteria. Las colonias se observan pequeñas, granulares, de color gris, con bordes irregulares y a veces pequeñas zonas de hemólisis β. Al microscopio son bacilos G(+) en forma de raqueta o letras chinas.

- *Staphylococcus* sp.: colonias redondas, lisas, prominentes y brillantes, colonias grises o amarillo dorado intenso.
- *Streptococcus* sp.: pueden ser α o β hemolíticos. Los α hemolíticos son, entre otros: *S. viridans* (caries dental, endocarditis, abscesos); *S. pneumoniae* (neumonía, meningitis, endocarditis). Los β hemolíticos que se pueden encontrar son, entre otros: *S. pyogenes, S. anginosis, S. intermedium. S. castellatus* (que pueden producir faringitis, fiebre reumática, glomerulonefritis).

3.2. Frotis de manos

La finalidad es garantizar que los manipuladores se están lavando correctamente las manos y en los momentos necesarios impidiendo de esta forma que a los alimentos lleguen contaminación por coliformes y *S. aureus*.

3.2.1. Toma de muestra: se realiza con escobillón humedecido frotando entre los dedos en palma de las manos, en borde y superficie de uñas. Se puede hacer también colocando la punta de los dedos en agar preparado en cajas, pero este método no cubre todas las áreas de la mano por lo que no es m uy recomendado. En laboratorios clínicos se usa el raspado o corte de las uñas que se pone en KOH (KOH de uñas) para observación directa al microscopio, este método tiene varios inconvenientes como el no tener en cuenta las demás áreas de la mano y que solo se observan al microscopio los hongos presentes en las uñas.

3.2.2. Normatividad y parámetros: estos parámetros son una guía de lo que podría usarse, pero cada fábrica puede estipular los suyos según estudios propios o conveniencia.

- Método de superficie por contacto (escobillón)
  AM: Máx 50 UFC/ml ó área de la mano
  MyL: Máx 15 UFC/ml ó área de la mano
  CT: < 1 UFC/ml ó área de la mano
  CF Ausencia (negativo) ó < 1 UFC/ml ó área de la mano.

3.3. Requisitos en Colombia para ser manipulador de alimentos

- Certificado de Asistencia a cursos de Educación Sanitaria
- Examen médico general: sintomático respiratorio y superficie de piel
- Resultados bacteriológicos negativos para exámenes de secreciones nasofaríngeas, en cuanto a estafilococos β hemolíticos y difteria.
- Coprocultivo negativo para *Shigella* sp y *Salmonella* sp y otros parásitos intestinales
- KOH negativo para uñas.
- Seriado de baciloscopia
- Certificado de salud por médico.
- Vigencia carné 1 año.

CUESTIONARIO

Señor estudiante:

- Lea el material entregado del tema: Análisis microbiológico de ambientes, equipos, superficies, y manipuladores
- A partir de la lectura resolver las siguientes preguntas:

1. Explique una razón por la que los equipos pueden ser foco de contaminación para un alimento

2. ¿Qué métodos de recolección de muestras se están usando actualmente para el análisis de ambientes?

3. ¿Cuál es la finalidad de realizar un frotis de garganta a un manipulador de alimentos?

4. Mencione 4 requisitos según la reglamentación colombiana para ser manipulador de alimentos.

5. ¿Cuáles son los 2 métodos de toma de muestra para superficies, equipos y envases?

6. Explique las diferencias en la toma de muestra para frotis de manos realizada con escobillón versus la que se realiza en laboratorios clínicos.

7. En general cuales son los grupos de indicadores que se deben analizar para pruebas de ambientes, envases, frotis de manos y superficies y equipos.