

**Desarrollo y aplicación de modelos predictivos  
*on-line* para la evaluación y gestión de riesgos  
microbiológicos en alimentos**

---

**Development and application of predictive  
models on-line for the evaluation and  
management of microbiological risks in food**

**Guillermo Linares Sánchez**

**Tutores de investigación:**

**Prof. Dr. Gonzalo Zurera Cosano / Dr. Fernando Pérez Rodríguez**

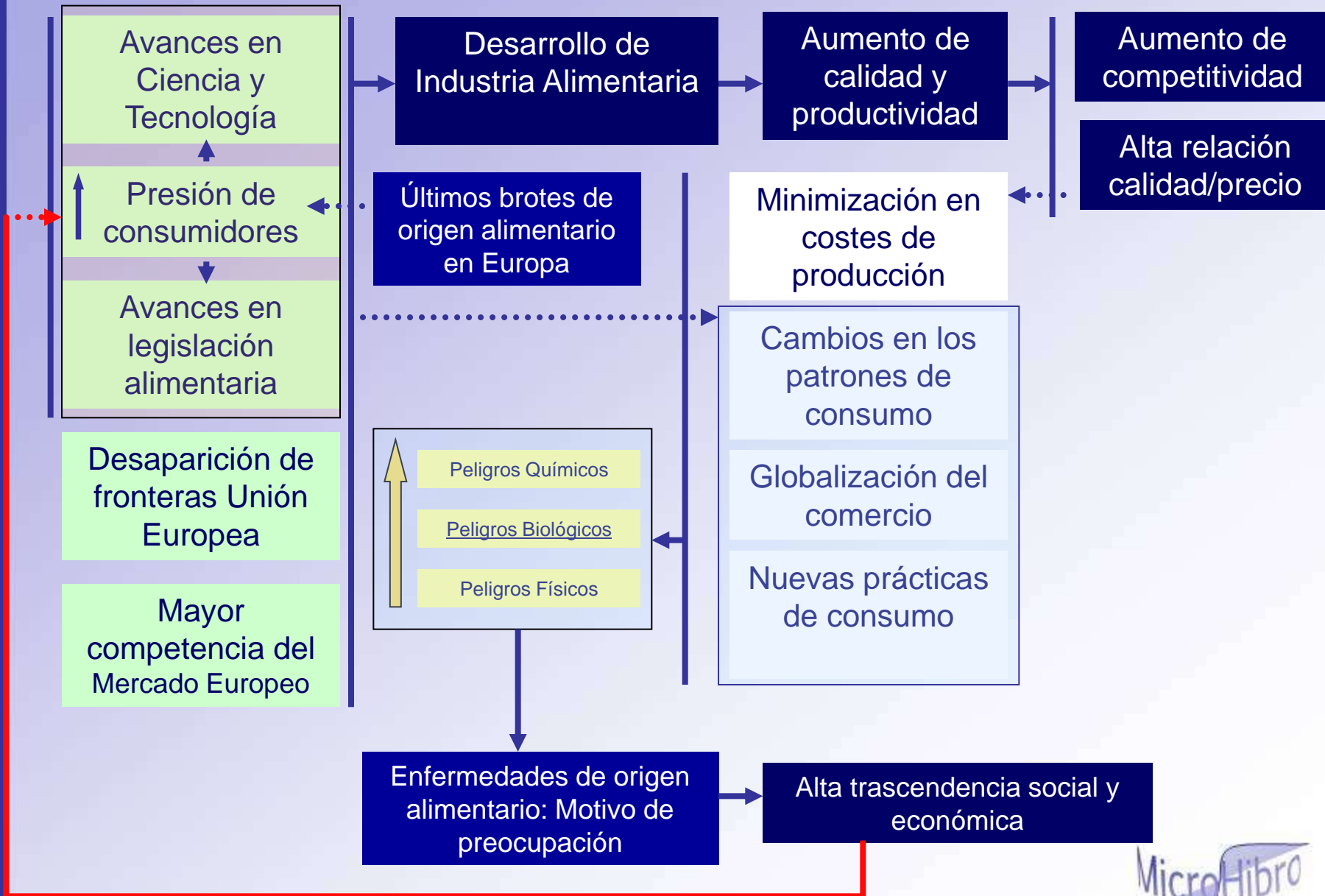
**Línea de investigación: Nutrición, Calidad y Seguridad Alimentaria**

**Grupo PAIDI: AGR170**

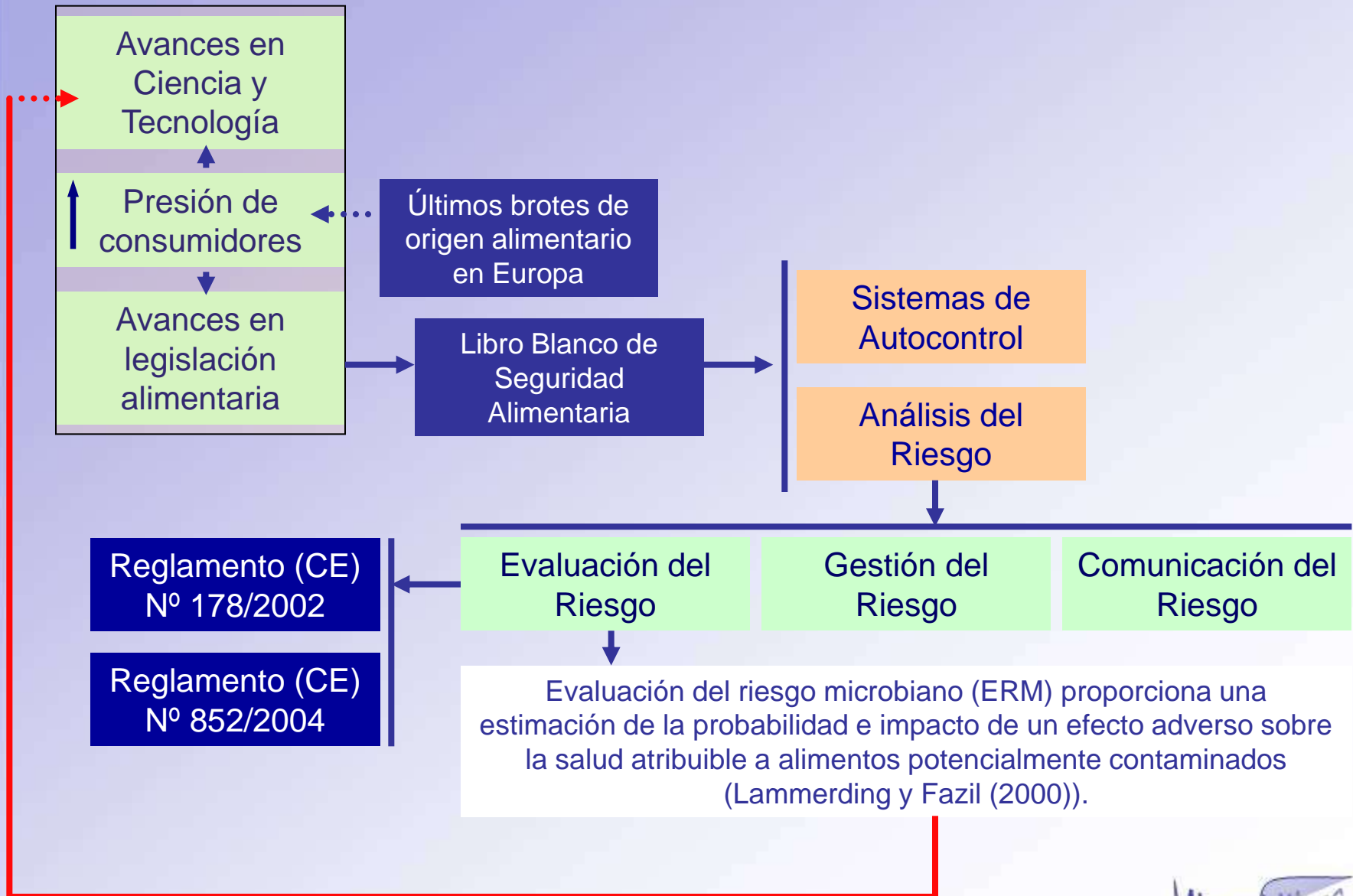
# ÍNDICE

- **INTRODUCCIÓN**
- **OBJETIVOS**
- **MATERIAL Y MÉTODOS**
- **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**
- **CONCLUSIONES**

# INTRODUCCIÓN: Seguridad alimentaria



# INTRODUCCIÓN: Sistema de Gestión del Riesgo





# INTRODUCCIÓN: Validación de modelos predictivos

Un modelo no puede ser aplicado si no ha sido validado previamente, y esto ocurre cuando las predicciones están confirmadas experimentalmente, o estadísticamente, o por algún otro método cuantitativo (Dym, 2004).

## Validación externa en el alimento

Los datos experimentales de crecimiento en alimentos son comparados con las predicciones del modelo

## Validación matemática

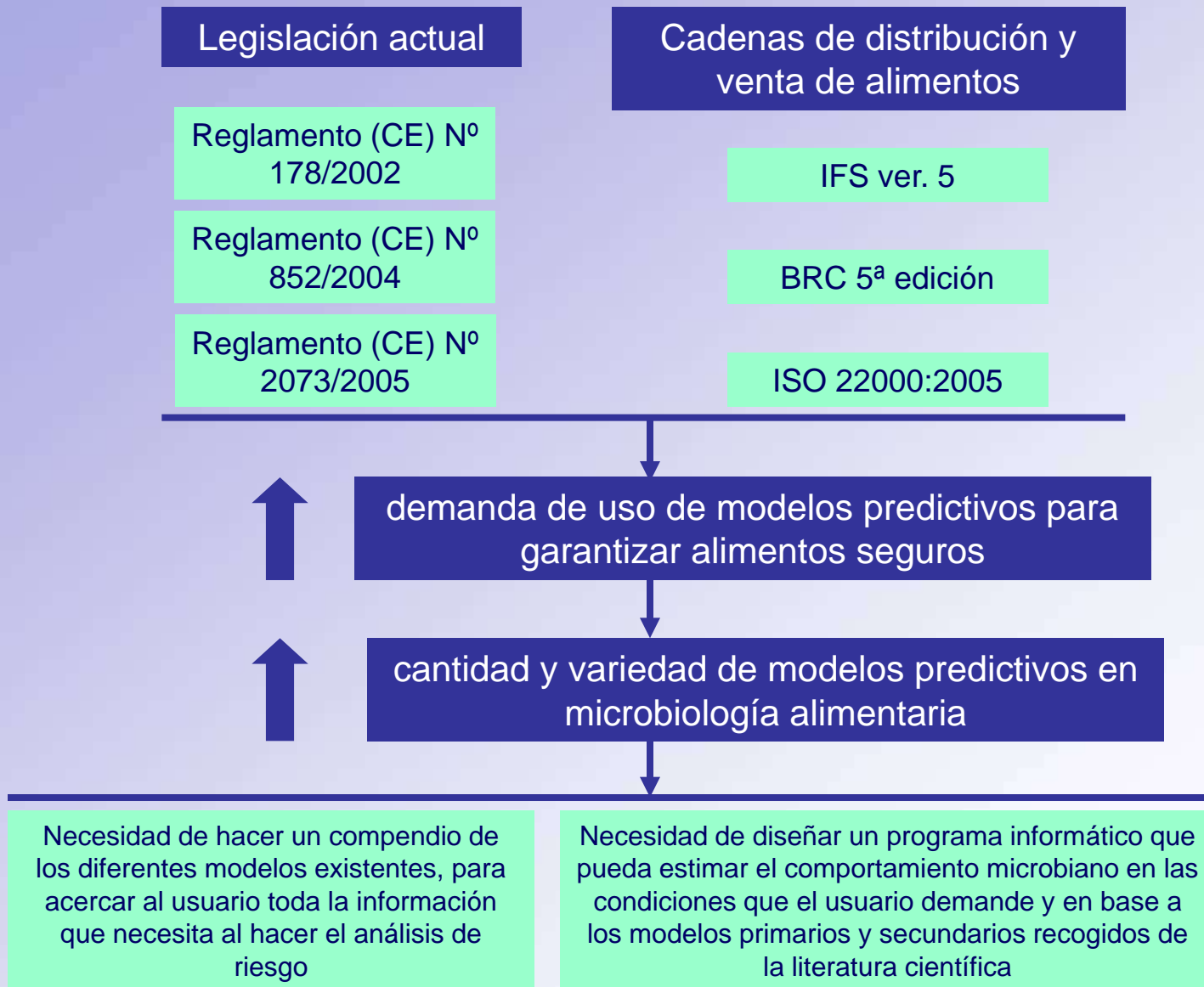
Es previa a la validación en el alimento, y su objetivo es estimar la bondad de interpolación del modelo

## Validación con datos de la literatura científica

Tiene el mismo propósito que la validación en alimento pero empleando datos de otros autores

# INTRODUCCIÓN: Aplicación de modelos predictivos:

## Desarrollo de un software para la Gestión de Riesgos Microbiológicos



# OBJETIVOS

- 1. Recopilación y estudio de modelos predictivos primarios y secundarios para diferentes patógenos y alimentos, existentes en la bibliografía o generados en el grupo de investigación, para su óptima incorporación en un modelo terciario de predicción**
- 2. Diseño y construcción de un modelo matemático terciario**
- 3. Diseño y desarrollo de un programa informático basado en el modelo terciario obtenido previamente**
- 4. Utilización de plataformas y lenguajes de programación de código abierto en el desarrollo de la aplicación, permitiendo mayor comprensión de los modelos, y posibilitando la evolución del programa**



# MATERIAL Y MÉTODOS: Modelo terciario

## MODELO SECUNDARIO

(pH, Aw, Temperatura, % sal)

Funciones  
polinomiales

Funciones  
tipo Gamma

Funciones  
tipo  
Ratkowsky

Funciones  
polinomiales

Funciones  
polinomiales

Funciones  
lógicas

$\mu_{\max}$

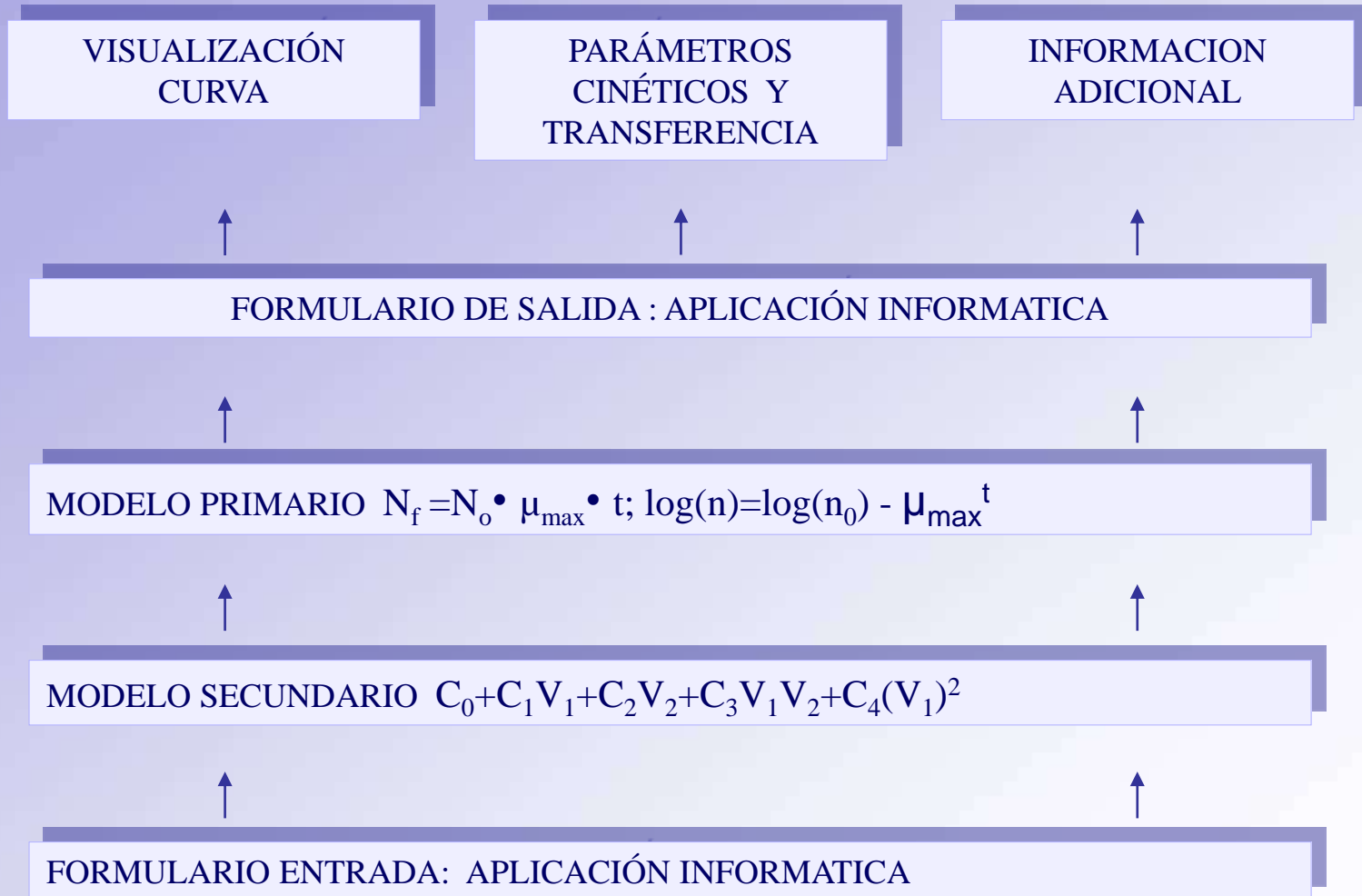
Lag

DMP

## MODELO PRIMARIO



# MATERIAL Y MÉTODOS: Modelo terciario



# MATERIAL Y MÉTODOS: Modelos y microorganismos utilizados

## Modelos de crecimiento

### Validado en productos cárnicos cocidos

#### *Listeria monocytogenes*

M.C. te Giffel y M.H. Zwietering (1999)

#### *Staphylococcus aureus*

A. M. Castillejo-Rodríguez, R. M. García Gimeno, G. Zurera Cosano, E. Barco Alcalá y M. R. Rodríguez Pérez (2002)

#### *Eschericia coli* O157:H7

R.M. García-Gimeno, C. Hervás-Martínez, E. Barco-Alcalá, G. Zurera-Cosano y E. Sanz-Tapia (2003)

### Validado en vegetales crudos de hojas

#### *Salmonella* sp.

Shigenobu Koseki, Seiichiro Isobe (2005)

#### *Listeria monocytogenes*

Shigenobu Koseki, Seiichiro Isobe (2005)

#### *Eschericia coli* O157:H7

Shigenobu Koseki, Seiichiro Isobe (2005)

## Modelos de transferencia

### Validado en productos cárnicos cocidos

#### *Eschericia coli* O157:H7

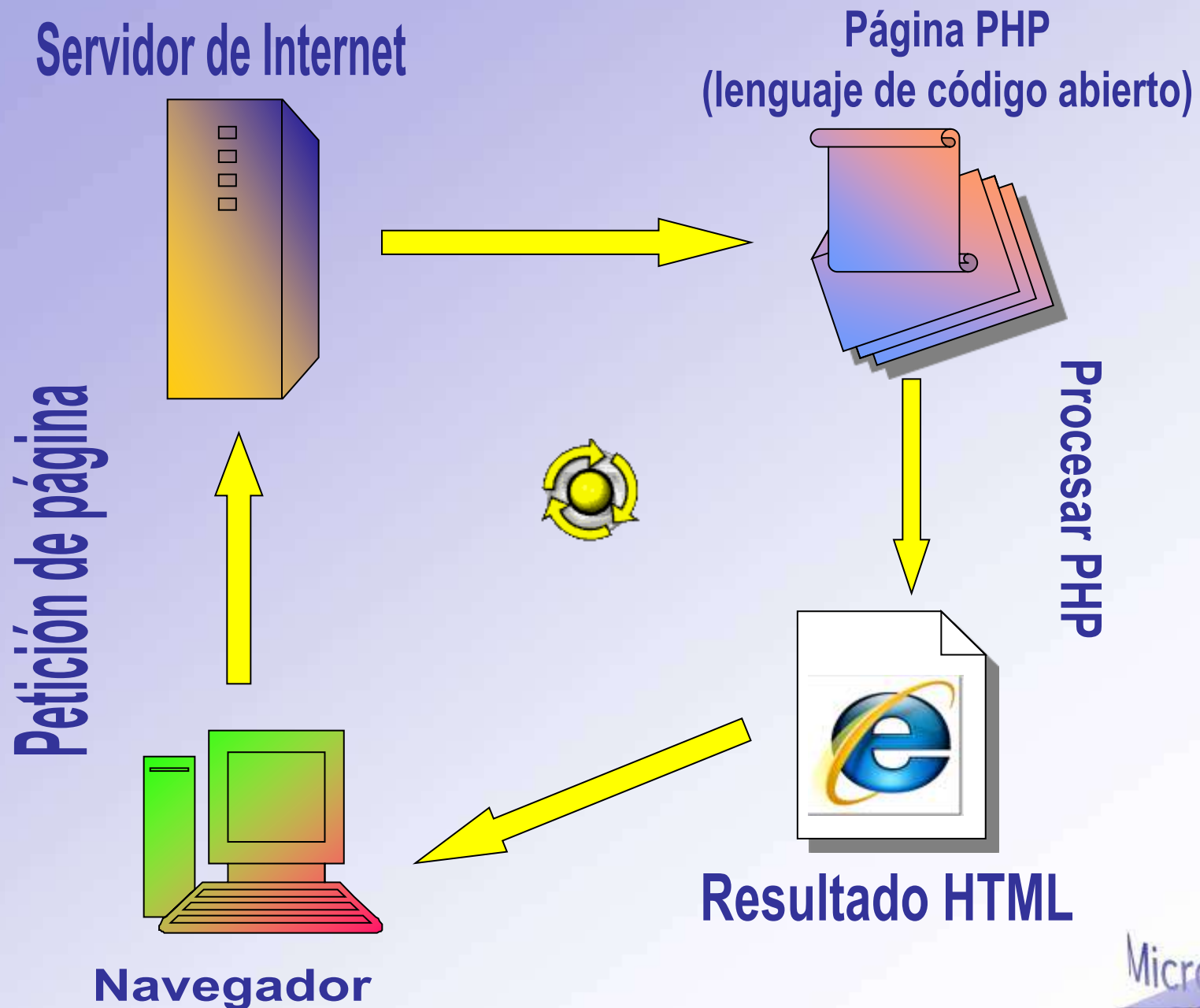
F. Pérez-Rodríguez, A. Valero, E.C.D. Todd, E. Carrasco, R.M. García-Gimeno, G. Zurera (2007)

#### *Staphylococcus aureus*

F. Pérez-Rodríguez, A. Valero, E.C.D. Todd, E. Carrasco, R.M. García-Gimeno, G. Zurera (2007)

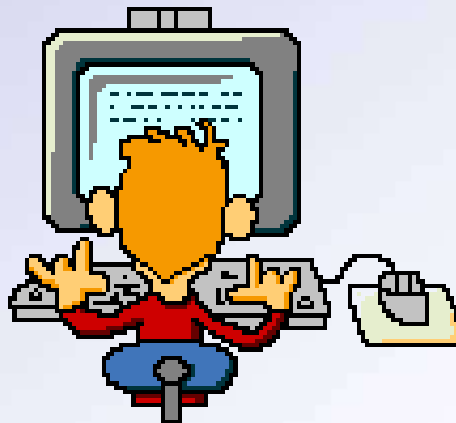


# MATERIAL Y MÉTODOS: Desarrollo y programación del programa informático



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

## Uso y funcionamiento



**VI Conferencia Internacional de Microbiología Predictiva**

Empresas del sector agroalimentario se reúnen en **Washington** [Sept-2009]

**Microbiología predictiva**

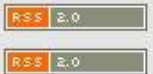
Tecnología de vanguardia para el aseguramiento de la inocuidad alimentaria, la optimización... [Leer más...](#)



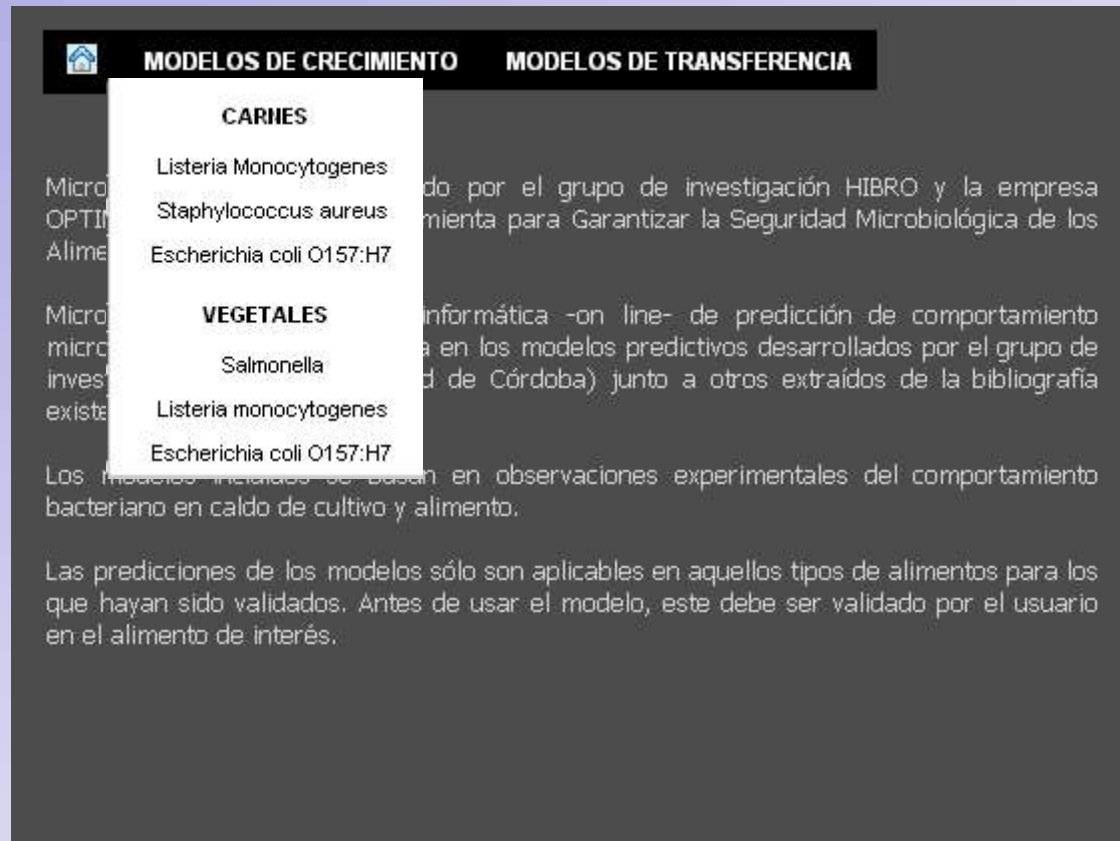
Dossier Optimum Quality  
Reglamento 852/2004

La aplicación de métodos de Evaluación de Riesgos proporcionará a su compañía de una prueba irrefutable ante clientes exigentes y control sanitario oficial de que sus productos y procesos garantizan la inocuidad alimentaria.

Optimum Quality está especializada en el desarrollo y aplicación de Modelos Predictivos y técnicas cuantitativas de Evaluación de Riesgos para el diseño y evaluación de procesos alimentario basados en criterios de inocuidad alimentaria.



# RESULTADOS Y DISCUSIÓN: Uso y funcionamiento



The screenshot shows a web-based interface with a dark header containing two tabs: "MODELOS DE CRECIMIENTO" and "MODELOS DE TRANSFERENCIA". A white dropdown menu is open, listing organisms under two categories: "CARIIES" and "VEGETALES".

**MODELOS DE CRECIMIENTO**    **MODELOS DE TRANSFERENCIA**

**CARIIES**

- Listeria Monocytogenes
- Staphylococcus aureus
- Escherichia coli O157:H7

**VEGETALES**

- Salmonella
- Listeria monocytogenes
- Escherichia coli O157:H7

Micro...  
OPTI...  
Alime...

Micro...  
micro...  
invest...  
existe...

Los modelos incluidos se basan en observaciones experimentales del comportamiento bacteriano en caldo de cultivo y alimento.

Las predicciones de los modelos sólo son aplicables en aquellos tipos de alimentos para los que hayan sido validados. Antes de usar el modelo, este debe ser validado por el usuario en el alimento de interés.

Sigue Parámetro  $Aw = 1 - \%NaCl * (5,2471 + 0,12206 * \%NaCl) / 1000$   
 modela (Resnik and Chirre, 1988)  
 que el

de las 20 de 2010

MODELOS DE CRECIMIENTO
MODELOS DE TRANSFERENCIA

### Condiciones Iniciales

**No:**  ufc  
 Aritmético

**Tiempo:**  h

**pH:**   
 Rango: 4.39 a 9.6

**Temperatura:**  °C  
 Rango: -1.5°C a 37°C

**Aw:**   
 Rango: 0.92 a 1.0

**Puntos:**  Número de puntos a representar

Calcular Crecimiento

### Listeria monocytogenes

Parámetros Modelo de Crecimiento

Tasa de Crecimiento:	0.37 [1/h]
Concentración Máxima:	8 [log ufc]
Concentración Max. Alcanzada:	8 [log ufc]
Tiempo Latencia:	15.7 [h]

### Valores

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
20	1.69
40	4.88
60	8
80	8
100	8
120	8
140	8
160	8
180	8
200	8

Maximizar Gráfica

-M.C. de Giffel y M.H. Zwietering (1999). Validation of predictive models describing the growth of Listeria monocytogenes. International Journal of Food Microbiology, 46.  
 Modelo de crecimiento de Listeria monocytogenes, desarrollado en caldo, en condiciones aeróbicas, considerando los parámetros T<sup>2</sup>, pH y aw. Validado para productos cárnicos cocidos.





# RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

## Ejemplos de utilización



# 1. Extensión de la vida comercial de un producto ya existente (*Staphylococcus aureus* en producto cárnico):

*Staphylococcus aureus*, factor limitante para establecer el tiempo de vida útil en un determinado producto cárnico de una empresa

Cliente: Distribuidor sufre presión de sus clientes, ya que no rotan el producto lo suficientemente rápido y caducan en sus estanterías

Problemas del productor con la logística. No pueden salir grandes cantidades, con lo que el transporte es más espaciado en el tiempo

Productor observa que el producto no tiene rotación. Por lo que fabrica menos, con lo que aumentan costes por cambios de formato en línea

Necesidad de aumentar el periodo de vida útil, lo que implicaría, en este caso, aumentar el tiempo de latencia de *Staphylococcus aureus*

Características del producto cárnico: pH=7, NaCl=4,5%,  $N_0=10$  ufc

¿Cómo puedo aumentar la vida útil del producto y hasta qué límites?

# 1. Extensión de la vida comercial de un producto ya existente (*Staphylococcus aureus* en producto cárnico):



# 1. Extensión de la vida comercial de un producto ya existente (*Staphylococcus aureus* en producto cárnico):

MODELOS DE CRECIMIENTO
MODELOS DE TRANSFERENCIA

### Condiciones Iniciales

**No:**  ufc  
 Aritmético

**Tiempo:**  h

**pH:**   
 Rango: 4.5 a 8.5

**Temperatura:**  °C  
 Rango: 10°C a 20°C

**NaCl:**  %  
 Rango: 0 a 8

**Puntos:**    
 Número de puntos a representar

Calcular Crecimiento

### Staphylococcus aureus

OPTIMUMQUALITY

### Valores

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
90	1
180	1
270	1
360	1
450	1
540	1
630	1
720	6.43
810	6.43
900	6.43

### Parámetros Modelo de Crecimiento

Tasa de Crecimiento: 0.97 [1/h]

Concentración Máxima: 6.43 [log ufc]

Concentración Max. Alcanzada: 6.43 [log ufc]

Tiempo Latencia: 690.01 [h]

Maximizar Gráfica

-A. M. Castillejo-Rodríguez, R. M. García Gimeno, G. Zurera Cosano, E. Barco Alcalá, y M. E. Rodríguez Pérez (2004). Assessment of Mathematical Models for Predicting *Staphylococcus aureus* Growth in-Cooked Meat Products. *Journal of Food Protection*, 65.

-G. Zurera-Cosano, A. M. Castillejo-Rodríguez, R. M. García-Gimeno y F. Rincón-León (2004). Performance of Response Surface and Davey Model for Prediction of *Staphylococcus aureus* Growth Parameters under Different Experimental Conditions. *Journal of Food Protection*, 67.

Modelo de crecimiento de *Staphylococcus aureus*, desarrollado en caldo, en condiciones aeróbicas, considerando los parámetros  $T^*$ , pH y  $a_w$ . Validado para productos cárnicos cocidos.

690.01 [h]



## 2. Diseño de productos (*Listeria monocytogenes* en producto cárnico):

Necesidad, por parte del productor, de aumentar la cartera de productos:  
Decide fabricar un nuevo producto cárnico.

Elementos de entrada según estudio de Marketing

Tiempo de vida útil requerido por clientes:  
Mínimo 52 horas

Características organolépticas similares a producto "Olix", incluimos  $A_w=0,96$  para que no cambie % de sal ni humedad

Tamaño "x"; "y" piezas por bandeja y otras características de logística

Mínima temperatura de almacenamiento a la que pueden llegar clientes y distribuidores:  $10^{\circ}\text{C}$

Resultado de diseño del producto en fase experimental en el laboratorio

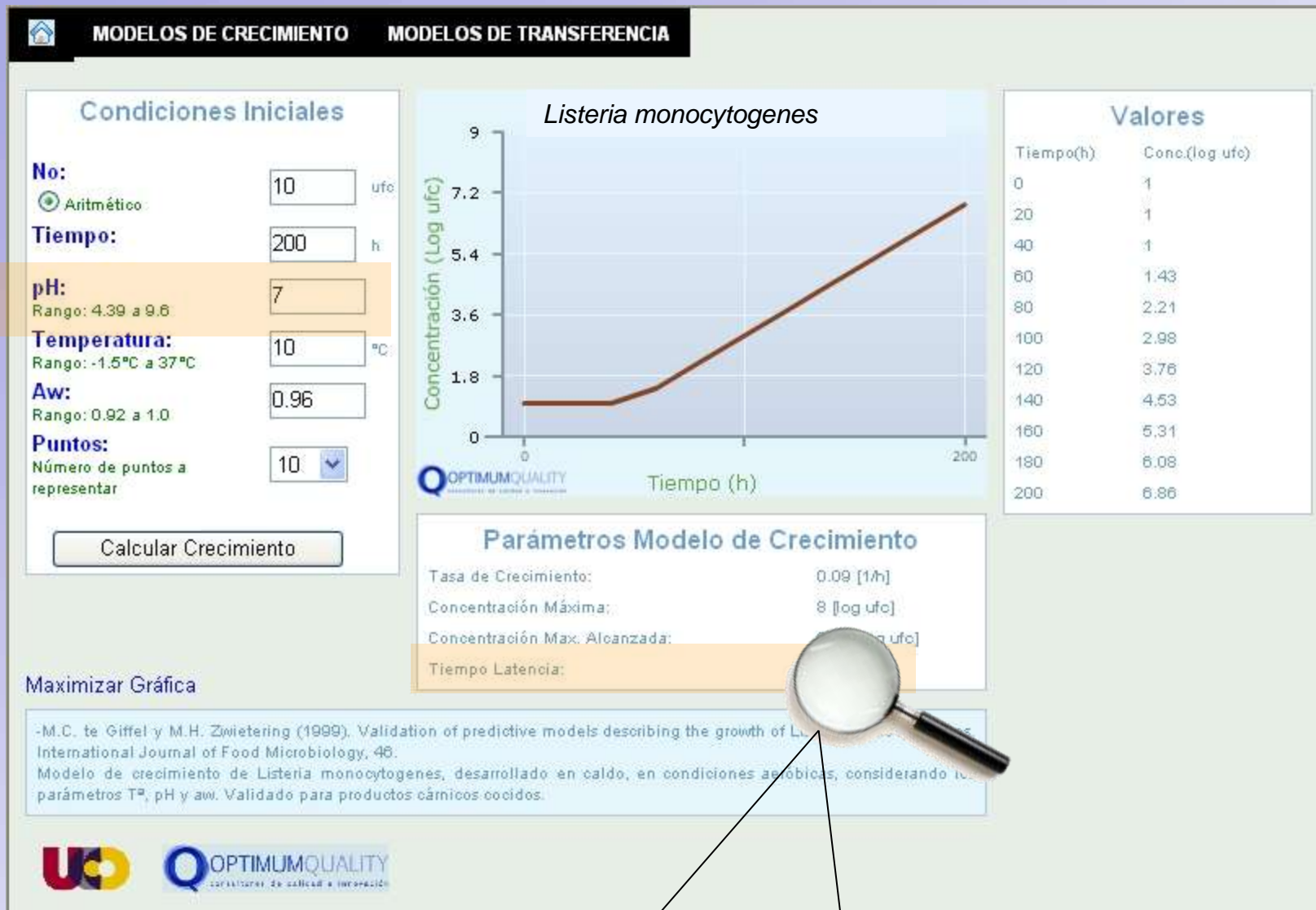
pH=7

Resultado de diseño del producto en fase experimental en el laboratorio, una vez adicionados correctores de acidez

pH=6

¿Puede fabricarse el nuevo producto cumpliendo los elementos de entrada exigidos por el estudio de Marketing?

## 2. Diseño de productos (*Listeria monocytogenes* en producto cárnico):



48.85 [h]

< 52 horas

## 2. Diseño de productos (*Listeria monocytogenes* en producto cárnico):

**MODELOS DE CRECIMIENTO**    **MODELOS DE TRANSFERENCIA**

### Condiciones Iniciales

**No:**  ufc  
 Aritmético

**Tiempo:**  h

**pH:**    
Rango: 4.39 a 9.6

**Temperatura:**  °C   
Rango: -1.5°C a 37°C

**Aw:**    
Rango: 0.92 a 1.0

**Puntos:**    
Número de puntos a representar:

### Listeria monocytogenes

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
20	1
40	1
60	1.12
80	1.78
100	2.45
120	3.11
140	3.77
160	4.43
180	5.09
200	5.76

### Valores

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
20	1
40	1
60	1.12
80	1.78
100	2.45
120	3.11
140	3.77
160	4.43
180	5.09
200	5.76

### Parámetros Modelo de Crecimiento

Tasa de Crecimiento: 0.08 [1/h]  
Concentración Máxima: 8 [log ufc]  
Concentración Max. Alcanzada:  [log ufc]  
Tiempo Latencia:  [h]

**Maximizar Gráfica**

-M.C. te Giffel y M.H. Zwietering (1999). Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. International Journal of Food Microbiology, 46.  
Modelo de crecimiento de *Listeria monocytogenes*, desarrollado en caldo, en condiciones aeróbicas, considerando los parámetros T<sup>2</sup>, pH y aw. Validado para productos cárnicos cocidos.

56.32 [h]

> 52 horas

### 3. Identificación de peligros (en producto vegetal):

Producto vegetal, se almacena a 9°C y tiene un periodo de vida comercial de 240 horas

#### Peligros Biológicos

*Salmonella sp.*

*Listeria monocytogenes*

*Eschericia coli O157:H7*

¿Qué microorganismos deben ser considerados como serios peligros biológicos en este producto vegetal? Por tanto, ¿qué medidas preventivas debería implantar en mi empresa para minimizar el riesgo?



### 3. Identificación de peligros (en producto vegetal):

MODELOS DE CRECIMIENTO    MODELOS DE TRANSFERENCIA

#### Condiciones Iniciales

**No:**  ufc  
 Aritmético

**Tiempo:**  h

**Temperatura:**  °C  
Rango: 5°C a 25°C

**Puntos:**    
Número de puntos a representar

#### Salmonella sp.

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
20	1
40	1
60	1
80	1
100	1
120	1
140	1.07
160	1.22
180	1.38
200	1.53

#### Valores

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
20	1
40	1
60	1
80	1
100	1
120	1
140	1.07
160	1.22
180	1.38
200	1.53

#### Parámetros Modelo de Crecimiento

Tasa de Crecimiento: 0.02 [1/h]  
Concentración Máxima: 4.78 [log ufc]  
Concentración Max. Alcanzada: [log ufc]  
Tiempo Latencia:

Maximizar Gráfica

Shigenobu Koseki y Seiichiro Isobe (2005). Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce under real temperature history during distribution from farm to table. International Journal of Food Microbiology, 104  
Modelo de crecimiento de Salmonella sp. desarrollado en lechuga, considerando como parámetro la temperatura.

UO    OPTIMUMQUALITY  
CORRELACIONES DE CALIDAD E INNOVACIÓN

131.26 [h]

<240 horas

### 3. Identificación de peligros (en producto vegetal):

MODELOS DE CRECIMIENTO    MODELOS DE TRANSFERENCIA

#### Condiciones Iniciales

No:  ufc  
 Aritmético

Tiempo:  h

Temperatura:  °C  
Rango: 5°C a 25°C

Puntos:    
Número de puntos a representar

Calcular Crecimiento

#### Listeria monocytogenes

Concentración (Log)

Tiempo (h)

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
20	1
40	1
60	1
80	1
100	1
120	1
140	1
160	1
180	1
200	1

#### Valores

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
20	1
40	1
60	1
80	1
100	1
120	1
140	1
160	1
180	1
200	1

#### Parámetros Modelo de Crecimiento

Tasa de Crecimiento: 0.01 [1/h]  
Concentración Máxima: 5.54 [log ufc]  
Concentración Max. Alcanzada: [log ufc]  
Tiempo Latencia:

Maximizar Gráfica

Shigenobu Koselá y Seiichiro Isobe (2005): Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce during distribution history during distribution from farm to table. International Journal of Food Microbiology, 104  
Modelo de crecimiento de Listeria Monocytogenes desarrollado en lechuga, en condiciones aeróbicas, considerando como parámetro la temperatura.

UQ    OPTIMUMQUALITY  
consultores de calidad e innovación

457.45 [h]

>240 horas

MicroHibro

### 3. Identificación de peligros (en producto vegetal):

**MODELOS DE CRECIMIENTO**    **MODELOS DE TRANSFERENCIA**

#### Condiciones Iniciales

**No:**  ufc  
 Aritmético

**Tiempo:**  h

**Temperatura:**  °C  
Rango: 5°C a 25°C

**Puntos:**    
Número de puntos a representar

#### Eschericia coli O157:H7

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
20	1
40	1
60	1
80	1
100	1
120	1
140	1.07
160	1.25
180	1.44
200	1.63

#### Valores

Tiempo(h)	Conc.(log ufc)
0	1
20	1
40	1
60	1
80	1
100	1
120	1
140	1.07
160	1.25
180	1.44
200	1.63

#### Parámetros Modelo de Crecimiento

Tasa de Crecimiento: 0.02 [1/h]  
Concentración Máxima: 6.33 [log ufc]  
Concentración Max. Alcanzada: 1.63 [log ufc]  
Tiempo Latencia:

Maximizar Gráfica

Shigenobu Koseki y Seiichiro Isobe (2005). Prediction of pathogen growth on iceberg lettuce u...  
history during distribution from farm to table. International Journal of Food Microbiology, 104  
Modelo de crecimiento de Eschericia coli O157:H7 desarrollado en lechuga, en condiciones aeróbicas, considerando  
como parámetro la temperatura.

133.06 [h]

<240 horas

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

## Integración en un Sistema de Gestión



### "7.5.2 Validación de los procesos de la producción y de la prestación del servicio.

La organización debe validar todo proceso de producción y de prestación del servicio cuando los productos resultantes no pueden verificarse mediante seguimiento o medición posteriores y, como consecuencia, las deficiencias aparecen únicamente después de que el producto esté siendo utilizado o se haya prestado el servicio. La validación debe demostrar la capacidad de estos procesos para alcanzar los resultados planificados."

### "7.3.6 Validación del diseño y desarrollo

Se debe realizar la validación del diseño y desarrollo de acuerdo con lo planificado para asegurarse de que el producto resultante es capaz de satisfacer los requisitos para su aplicación especificada o uso previsto, cuando sea conocido. Siempre que sea factible, la validación debe completarse antes de la entrega o implementación del producto. Deben mantenerse registros de los resultados de la validación y de cualquier acción que sea necesaria."



MICROHIBRO, herramienta útil para corregir desviaciones, establecer medidas correctoras y preventivas, desarrollar nuevos productos con elevada garantía sanitaria, hacer crecer a la propia empresa y, en definitiva, mejorar la satisfacción del cliente.

# CONCLUSIONES

1. Se proporciona un programa informático “on line” (MICROHIBRO) de fácil acceso y aplicación para la determinación y predicción del crecimiento y transferencia de ciertos patógenos alimentarios en productos cárnicos y vegetales
2. El programa MICROHIBRO es una herramienta útil para gestores del riesgo en sus distintos niveles que puede tener aplicación en la determinación de la vida comercial de productos, diseño de nuevos productos, diseño de medidas correctoras y en la identificación de peligros
3. Se comprueba que el lenguaje de programación PHP (Hypertext Preprocessor) es adecuado para el diseño del programa “on line” de predicción del comportamiento microbiano en alimentos (MICROHIBRO)

# CONCLUSIONES

4. El uso de código libre permite la revisión y evolución constante del programa mediante aportaciones y mejoras de usuarios expertos
5. La estandarización de los modelos es base importante para la optimización en el diseño y mejora del funcionamiento del programa MICROHIBRO, y otros programas similares (PMP y ComBase)
6. Entre los modelos con mayor aplicabilidad, destacamos especialmente el modelo tipo Gamma, el cual permite obtener predicciones con una mayor sencillez matemática, incluyendo amplios rangos de factores, y posibilitando su fácil ampliación a otros factores, simplemente, mediante la adición de un nuevo término a la función

# Gracias por su atención

Guillermo Linares Sánchez



MicroHibro