

# **Impacto dos testes de indicadores microbiológicos e de ATP combinados - sobre a eficácia da higienização e consequente qualidade dos produtos**

Resultados de um estudo revisado por pares conduzido pela Cornell University e Neogen

Programas eficazes de monitoramento ambiental (PMA's) se baseiam no monitoramento da higienização como um todo. Um programa robusto que utiliza testes de ATP e testes microbiológicos, pode ajudar a indústria de alimentos a cumprir legislação, avaliar a eficácia dos processos de limpeza e sanitização e mandar a qualidade e segurança dos alimentos. Para desenvolver um programa robusto, o Departamento de Ciência dos Alimentos da Universidade de Cornell e a Neogen conduziram um estudo de várias fases em uma linha de produção de alimentos prontos para o consumo, utilizando o Neogen® Clean-Trace® e o Neogen® Petrifilm®. Os resultados mostraram que uma higienização eficaz contribui para a qualidade microbiológica dos alimentos produzidos. Com instalações mais limpas, houveram menos falhas, levando a uma redução da frequência dos testes, mantendo o processo sob controle. O software de monitoramento de higienização Neogen® Clean-Trace® foi essencial ao facilitar a coleta e análise de dados, bem como a identificação e justificativa de oportunidade de melhoria nesse quesito. Este estudo pode ser usado como orientação para ajudar outros fabricantes de alimentos a atingir resultados semelhantes.

## Introdução

As instalações de fabricação de alimentos, seja qual for o tamanho ou o tipo de produto fabricado, devem cumprir as legislações estabelecidas para manter a segurança e qualidade dos alimentos. As legislações podem exigir controles de riscos biológicos e químicos para evitar a contaminação dos produtos causada em ambientes de produção. Por exemplo, nos Estados Unidos, as superfícies de fabricação de alimentos precisam ser higienizadas com a frequência necessária para evitar a contaminação dos alimentos produzidos.

Pode-se atender a esses requisitos com um programa robusto de monitoramento ambiental (PMA) que utiliza testes de bioluminescência de adenosina trifosfato (ATP) e testes de indicadores microbiológicos. Quando falamos em Monitoramento de higienização, avaliamos a eficiência dos procedimentos de limpeza e sanitização. Os testes de bioluminescência de ATP são um método amplamente aceito de monitoramento de higiene que pode indicar em tempo real se os processos foram eficazes. E complementando esses, os testes de indicadores microbiológicos fornecem resultados para verificar o status de higienização.

Usando testes de bioluminescência de ATP e testes de indicadores microbiológicos combinados, podemos oferecer uma avaliação dos procedimentos de limpeza e sanitização. Mas, para utilizar essas ferramentas com maior eficácia, também é necessária uma estrutura sistemática para a apresentação e a aplicação dessas ferramentas.

O Departamento de Ciência dos Alimentos da Cornell University e a Neogen conduziram um estudo de várias fases em uma planta industrial de alimentos prontos para o consumo para avaliar a eficácia de testes de bioluminescência de ATP e testes de indicadores microbiológicos nessa instalação e o impacto combinado sobre a eficácia da higienização, e a qualidade de microbiológica dos produtos.

## Métodos

Quando o estudo trifásico iniciou, foram identificados 30 locais para testes de ATP e microbiológicos, com base na dificuldade relativa de higienização, preferindo os locais considerados de limpeza mais difícil.

Na Fase 1, os testes ATP foram coletados em 30 locais por dia por 3 semanas usando o sistema de monitoramento e gerenciamento de higienização Neogen Clean Trace para verificação dos procedimentos de higienização e estabelecimento dos resultados da linha de base. Foram realizados testes microbiológicos do ambiente, em paralelo, para identificar bolores e leveduras, bactérias ácido-láticas e microrganismos aeróbios mesófilos. Foram coletadas amostras ambientais das superfícies adjacentes usando swabs rápidos da Neogen e realizados testes Neogen Petrifilm Placa para Contagem Rápida de Bolores e leveduras, Neogen Petrifilm Placa para Contagem de Bactérias Ácido-Láticas e Neogen Petrifilm Placa para Contagem Rápida de Aeróbios mesófilos.

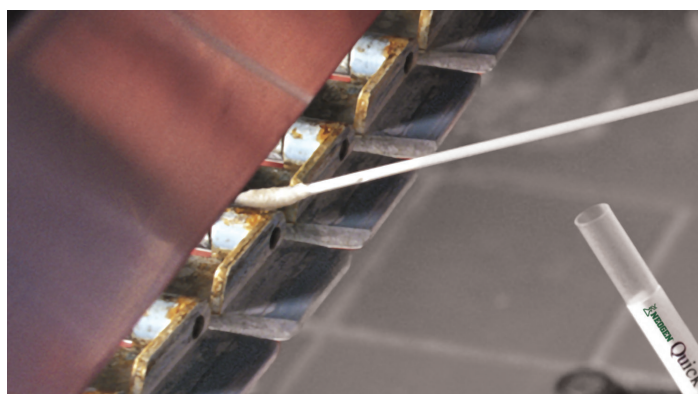
Na Fase 2, os resultados da Fase 1 foram usados para identificar e atingir locais que precisavam de melhoria na limpeza. Esta incluía maior tempo dedicado à limpeza e desmontagem de alguns equipamentos para acessar áreas de difícil acesso. Os testes ATP e microbiológicos foram mantidos em 30 locais por dia por 6 semanas.

Na Fase 3, foi utilizado o software de monitoramento de higienização Neogen Clean-Trace para randomizar locais e otimizar a amostragem. Foram conduzidos testes de ATP e microbiológicos em 18 locais, e não 30, por dia, por 16 semanas, mantendo as práticas de limpeza modificadas.

Nas Fases 1 e 3, amostras dos produtos foram coletadas durante a produção e avaliadas usando Neogen Petrifilm Placa para Contagem Rápida de Bolores e leveduras, Neogen Petrifilm Placa para Contagem de Bactérias Ácido-Láticas e Neogen Petrifilm Placa para Contagem Rápida de Aeróbios mesófilos para determinar o impacto da higienização direcionada na qualidade microbiana dos produtos.



Swab para teste de ATP com o sistema de monitoramento de higienização Clean-Trace



Coleta de amostras usando o Quick Swab



Inoculação da placa de Petrifilm usando o Quick Swab

# Resultados e discussão

## Qualidade ambiental

Nas fases 1, 2 e 3 do estudo, 960 amostras ambientais foram avaliadas com o Sistema de Monitoramento e Gerenciamento de Higienização Neogen Clean-Trace e as placas Neogen Petrifilm.

Nos resultados de testes ATP, a proporção de locais que não atenderam às exigências sanitárias mínimas diárias foi mais alta na Fase 1, mas diminuiu continuamente na Fase 2 antes de estabilizar na Fase 3.

Os resultados dos testes microbiológicos para contagem aeróbica e de bactérias ácido-láticas da amostragem de superfícies complementares estavam correlacionados aos resultados dos testes de ATP, mostrando uma redução significativa da Fase 1 para a Fase 3 ( $p < 0,001$ ).

## Qualidade de produtos microbiológicos

Nessa linha de produção, o produto passou por duas etapas de processamento térmico: um tratamento térmico inicial de 88°C para reduzir a carga microbiana na matéria-prima, seguido de uma pasteurização no interior da embalagem. Após a implementação da limpeza direcionada, os dados quantitativos dos produtos alimentícios empacotados, pré-pasteurizados indicou uma redução significativa na carga de microrganismos da Fase 1 para a Fase 3.

No total, 175 amostras foram coletadas antes da pasteurização na embalagem (pré-pasteurização) e após a pasteurização na embalagem (pós-pasteurização) na Fase 1 ( $n=87$ ) e na Fase 3 ( $n=88$ ). Entre os produtos pré-pasteurizados, as populações de bolores e leveduras, bactérias ácido-láticas e contagens de aeróbios foram significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) quando cada um dos grupos indicadores foi comparado entre a Fase 1 e a Fase 3. Isso demonstrou uma diminuição na carga microbiana e melhoria na qualidade microbiológica.

O processamento inicial das matérias primas envolve o aquecimento a 88 °C, o que reduz significativamente a carga microbiana. Após o aquecimento, o produto é prensado, cortado e embalado antes da pasteurização. Portanto, a carga microbiana encontrada no produto pré-pasteurizado está amplamente associada à contaminação pós-processo, incluindo a originada do contato com superfícies dos equipamentos. Esses resultados demonstraram que a limpeza direcionada monitorada pelo teste de ATP e de indicadores microbiológicos pode melhorar a qualidade microbiológica dos produtos.



A combinação do sistema Neogen Clean Trace e das Neogen Petrifilm ajudou a melhorar de forma significativa a higienização geral da fábrica. Podemos identificar rapidamente áreas que precisam de maior limpeza e ação corretiva.

### Sócio

Empresa de produção de alimentos prontos para consumo.



**Figura 2: Redução nas taxas de falha da amostra ambiental**

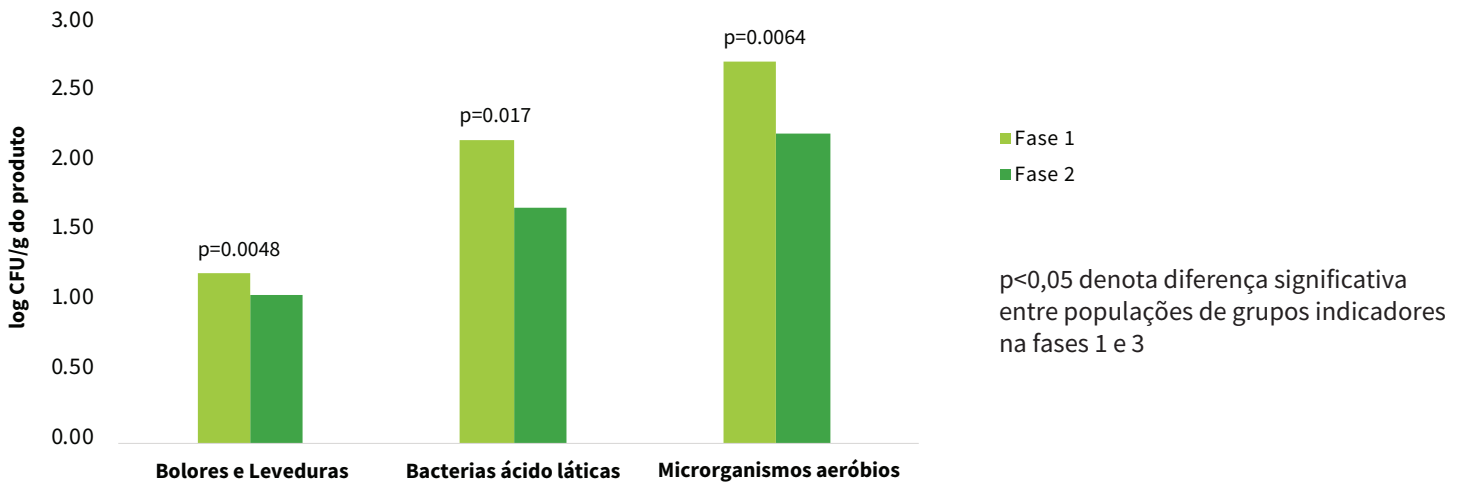
	Zona 1	Zona 2
<b>Teste de Superfície ATPClean-Trace</b>		
ATP <sup>2</sup>	26.5%	51%
<b>Placas Petrifilm</b>		
Contagem Rápida de Aeróbios <sup>2</sup>	21.8%	26.8%
Bactérias ácido lácticas <sup>2</sup>	9.7%	14.1%
Contagem Rápida de Bolores e Leveduras <sup>3</sup>	**	**

2 Houve uma diferença significativa na % da diminuição da taxa de falha entre a Fase 1 e a Fase 3 ( $p < 0,05$ )

3 Nenhuma alteração significativa foi determinada ( $p > 0,05$ )

**Figura 2. Redução nas taxas de falha da amostra ambiental para testes de ATP e de indicadores microbiológicos, antes e depois da implementação da limpeza direcionada. A taxa de falha é representada como uma diminuição da % da Fase 1 (antes da implementação da limpeza direcionada) para a Fase 3 (após a implementação da limpeza direcionada). Os resultados do teste são agrupados por zona de amostragem ambiental.**

**Figura 3: Melhoria na qualidade microbiológica dos produtos**



**Figura 3. Carga microbiana de bolores e leveduras, bactérias ácido lácticas e microrganismos aeróbios em produtos pré pasteurizados embalados. As amostras foram coletadas na Fase 1 (antes da implementação da limpeza direcionada) e na Fase 3 (após a implementação da limpeza direcionada).**

## Implicações para fabricantes de alimentos e bebidas

Durante o estudo, o uso combinado do Sistema de Monitoramento e Gerenciamento de higienização Neogen Clean-Trace e de placas Neogen Petrifilm permitiu a otimização de limpeza e sanitização. Isso resultou na melhoria do plano de monitoramento ambiental da fábrica da instalação de manufatura e na qualidade microbiológica de alimentos produzidos.

À medida que o estudo avançava e a instalação ficava mais limpa, ocorreram menos falhas nos testes. Esses resultados permitiram à equipe reduzir com confiança o número de sites de teste e controlar o processo de higienização para garantir os resultados desejados.

Somado a isso, o estudo estabeleceu uma estrutura para que, no futuro, quando a instalação encontrar problemas de limpeza ou observar tendências indesejadas em falhas de swab, ela possa adotar as ações adequadas para reestabelecer o controle da higienização.

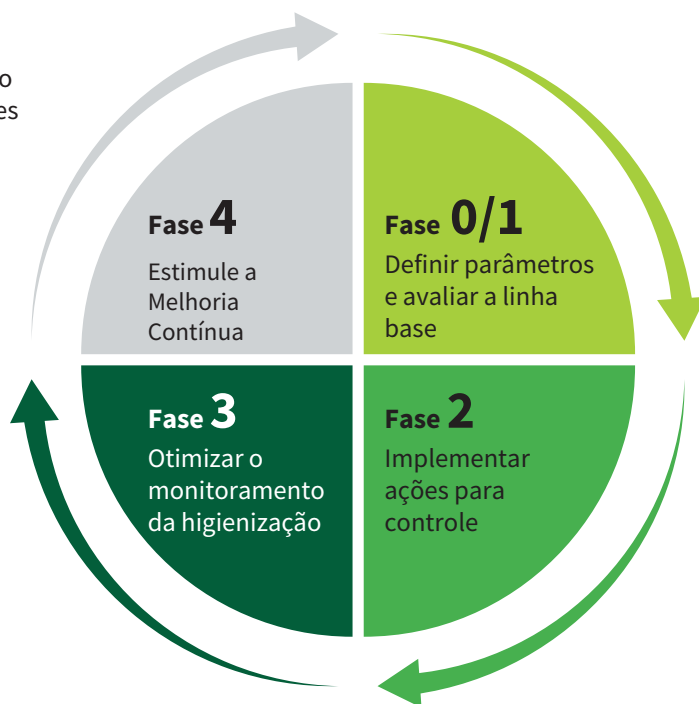
O software de monitoramento de higienização Neogen Clean-Trace também foi essencial no processo por meio da coleta de dados e análise de desempenho. Através da gestão dos dados coletados pelo software, observou-se uma ajuda na identificação e justificativa das oportunidades para aprimoramentos da higienização.

## Uma estrutura para implementar o monitoramento ambiental

Desenvolver e implementar um programa de monitoramento ambiental, conforme descrito no Manual de monitoramento ambiental da Universidade de Cornell e Neogen para a indústria de alimentos e bebidas,<sup>4</sup> envolve diversas considerações incluindo frequência, local elimites aceitáveis dos testes. Essas considerações são específicas do produto e do processo, mas requerem uma estrutura sistemática para serem implementadas.

Selecionar os locais de amostragem pode exigir o mapeamento da instalação e do processo de produção completos, dividindo a instalação em zonas com base no risco microbiológico para o produto e concluindo uma avaliação dos locais de teste mais adequados. Os locais de teste devem ser selecionados após a condução de uma análise de risco adequada para entender sua associação aos locais tendo em conta o estágio do processamento, a proximidade com o alimento, o potencial de contaminação cruzada, a facilidade de limpeza e a condição da superfície testada.

Figura 4: Estrutura para implementar o monitoramento ambiental



### Fase 0: Definir parâmetros

- Identifique locais de teste usando uma análise de abordagem com base em riscos.
- Identifique os métodos de teste adequados (por exemplo, Sistema de monitoramento e gerenciamento de higienização Neogen Clean-Trace ou Neogen Petrifilm Placas).
- Defina os critérios de aceitação iniciais (por exemplo, limites de aprovação/reprovação) para os pontos de testes alvo
- Determine planos de ação e ações corretivas quando ocorrerem falhas

### Fase 1: Avaliar a linha base

- Comece os testes com frequência alta por determinado período (por exemplo, no mínimo 2-3 semanas) enquanto mantém procedimentos normais de limpeza e sanitização.
- Acompanhe e defina a tendência dos resultados dos testes. Para isso, use um sistema de software (por exemplo, Software para monitoramento de higiene Neogen Clean-Trace ou Software Neogen® Petrifilm® Plate Manager). Aceite ou ajuste os critérios de aceitação definidos na Fase 1 para determinar uma linha de base para cada ponto de testes alvo
- Identifique locais com problemas que vão exigir limpeza e sanitização direcionados.

### Fase 2: Implementar ações para controle

- Mantenha os testes com frequência alta por determinado período (por exemplo, 4-6 semanas).
- Continue acompanhando e definindo a tendência dos resultados dos testes.
- Aponte locais com problemas identificados na Fase 1 e implemente procedimentos de limpeza e sanitização revisados.
- Determine se as linhas de base definidas na Fase 1 precisam de ajuste.

### Fase 3: Otimizar o monitoramento da higienização

- Randomize os locais de teste. Isso reduzirá a frequência dos testes enquanto garante que todos os pontos de teste identificados sejam avaliados ao longo de um período definido. Um sistema de software pode randomizar um plano de amostragem enquanto mantém pontos de teste críticos e garante a verificação da limpeza e sanitização (por exemplo, o Software para monitoramento de higienização)
- Continue acompanhando e definindo a tendência dos resultados dos testes.
- Continue os procedimentos de limpeza e sanitização revisados.
- Quando ocorrerem falhas, implemente o plano de ação e as ações corretivas imediatamente.
- Mantenha atenção aos locais com problemas identificados anteriormente. Um sistema de software pode aumentar o foco nos locais de teste e a identificação de falhas. Se ocorrerem falhas novamente nesses locais, repita os procedimentos da Fase 1 e Fase 2.

### Fase 4: Melhoria contínua

- Continue acompanhado e definindo a tendência dos resultados dos testes para permitir a identificação de possíveis problemas antes que eles causem impacto na qualidade ou segurança de uma operação.
- Revise os critérios de aceitação continuamente. Por exemplo, se um ponto de teste de ATP nunca tiver falhado por muitas medições ao longo de um período prolongado, o limite de aprovação/reprovação poderá ser reduzido para buscar a melhoria contínua.
- Determine se outros elementos podem ser adicionados ao programa de monitoramento de higienização atual. Se novos elementos forem adicionados, repita a Fase 1 e a Fase 2 com teste otimizado.



Este estudo demonstra o poder de um programa de monitoramento ambiental robusto – combinando testes de ATP com testes de indicadores microbiológicos – para fortalecer os programas de higienização atuais e aprimorar a segurança e a qualidade dos alimentos para o consumidor. Além disso, os resultados de monitoramento ambiental podem ser usados para desenvolver um programa robusto orientado por dados que é eficaz e eficiente, ajudando assim a reduzir custos. Como padrão, a indústria deve usar este método para verificar programas de monitoramento ambientais. Isso é essencial.

– Randy Worobo, Ph.D.,

Professor de Microbiologia de Alimentos, Universidade Cornell  
Departamento de Ciência dos Alimentos

# Considerações para implementação na sua instalação

Neste estudo, testes de bioluminescência de ATP e testes do indicadores microbiológico demonstraram ser ferramentas complementares para avaliar e aprimorar o status do monitoramento ambiental da linha de produção do cliente. Os resultados mostraram uma melhoria na qualidade microbiológica do produto após a limpeza direcionada.

Este estudo também descreve uma estrutura que utiliza o Sistema de Monitoramento e Gerenciamento de Higienização Neogen Clean-Trace e Neogen Petrifilm, que podem ser usadas por fabricantes de alimentos para implementar testes de monitoramento de higienização e testes microbiológicos como parte de um programa de monitoramento ambiental robusto.

Ao implementar ou expandir o programa de monitoramento ambiental em sua instalação, considere as seguintes questões:

- 1 Como você selecionou os locais de testes?
- 2 Você sabe como os limites de aprovação e reprovação foram estabelecidos?
- 3 Você pode confirmar de forma quantitativa que o processo de higienização está sob controle?



**Saiba mais sobre monitoramento ambiental**  
[info.neogen.com/Environmental-Monitoring](https://www.neogen.com/Environmental-Monitoring)



**Fale com um especialista da Neogen**  
<https://www.neogen.com/pt/special-offers/identify-opportunities-improve-existing-emp/>

1. Code of Federal Regulations. 2020. Title 9. Animals and animal products. Chapter III. Food Safety and Inspection Service, Department of Agriculture. Subchapter E. Regulatory requirements under the federal meat inspection act and the poultry products inspection act. Part 416. Sanitation. Section 416.4. Sanitary operations. 9 CFR 416.4. <https://www.govinfo.gov/app/collection/cfr/2020/title9/chapterIII/subchapterE/part416/Section%20%2%A7%20416.4/>.
2. Code of Federal Regulations. 2020. Title 21. Food and drugs. Chapter I. Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Subchapter B. Food for human consumption. Part 117. Current good manufacturing practice, hazard analysis, and risk-based preventive controls for human consumption. Section 117.35. Sanitary operations. 21 CFR 117.35. <https://www.govinfo.gov/app/collection/cfr/2020/title21/chapterI/subchapterB/part117/subpartB/Section%20%2%A7%20117.35/>.
3. Sogin JH, Lopez-Velasco G, Yordem B, Lingle CK, David JM, Çobo M, Worobo RW. 2021. Implementation of ATP and microbial indicator testing for hygiene monitoring in a tofu production facility improves product quality and hygienic conditions of food contact surfaces: a case study. Appl Environ Microbiol 87:e02278-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.02278-20>.
4. Neogen. 2019. Neogen Cornell Environmental Monitoring Handbook for the Food and Beverage Industries.

**Este artigo é destinado a fornecer somente orientação geral. As informações técnicas, recomendações e outras declarações contidas neste documento são baseadas na experiência e nas informações que a Neogen acredita serem confiáveis, mas a precisão ou integridade de tais informações não é garantida. Essas informações destinam-se às pessoas com conhecimento e habilidades técnicas suficientes para avaliar e aplicar seu próprio julgamento alinhado às informações, levando em consideração a natureza de seus negócios, as políticas existentes e as leis e regulamentos específicos que possam ser aplicáveis.**

