

# Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre la verificación de estudios de vida útil en relación a *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo

## Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición

Montaña Cámara Hurtado, Pilar Conchello Moreno, Álvaro Daschner, Ramón Estruch Riba, Rosa María Giner Pons, Elena González Fandos, Susana Guix Arnau, Ángeles Jos Gallego, Jordi Mañes Vinuesa, Olga Martín Belloso, María Aránzazu Martínez Caballero, José Alfredo Martínez Hernández, Alfredo Palop Gómez, David Rodríguez Lázaro, Gaspar Ros Berruezo, Carmen Rubio Armendáriz, María José Ruiz Leal, Jesús Ángel Santos Buelga, Pau Talens Oliag, Josep Antoni Tur Marí

## Secretario técnico

Vicente Calderón Pascual

Número de referencia: AESAN-2019-001

Documento aprobado por la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico en su sesión plenaria de 5 de febrero de 2019

## Grupo de trabajo

Alfredo Palop Gómez (Coordinador)  
Pilar Conchello Moreno  
Elena González Fandos  
David Rodríguez Lázaro  
Gaspar Ros Berruezo  
Jesús Ángel Santos Buelga

## Resumen

La Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y varias comunidades autónomas han creado un grupo de trabajo para la elaboración de un “Documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación a *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo”. Se ha solicitado a la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) que revise el Documento de orientación y proponga ejemplos prácticos para su mejor comprensión.

El Documento de orientación describe un procedimiento que sirva de herramienta a las autoridades competentes de inspección para verificar la idoneidad de los estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes* elaborados por los operadores de empresas alimentarias dedicadas a la fabricación, envasado y reenvasado de alimentos listos para el consumo.

El Documento recopila la información existente en torno a los estudios de vida útil y describe un procedimiento para la verificación de estos estudios, incluyendo un listado de verificación que permite chequear el cumplimiento de distintos requisitos de los estudios presentados.

La Red de Excelencia de priorización y evaluación cuantitativa de riesgos biológicos en España, BIOQURA, ha elaborado una serie de ejemplos prácticos, de los que se recoge una breve descripción en el presente informe.

El Comité Científico concluye que el Documento de orientación es adecuado, en el momento actual, para el fin previsto. Este Documento deberá actualizarse periódicamente a la luz de la experiencia de su aplicación, el avance en los conocimientos científicos, los cambios en la legislación y las directrices sobre este tipo de estudios que puedan establecerse a nivel nacional o de la Unión Europea.

## Palabras clave

Estudios de vida útil, alimentos listos para el consumo, *Listeria monocytogenes*.

## **Report of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) regarding the verification of *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods**

### **Abstract**

The Spanish Agency for Food Safety and Nutrition (AESAN) and the competent authorities of various Spanish regional governments (autonomous communities) created a working group for the preparation of a “Guidance Document for the verification of *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods”. The Section of Food Safety and Nutrition of the Scientific Committee of the Spanish Agency for Food Safety and Nutrition was asked to revise the Guidance Document and propose practical examples for its better understanding.

The Guidance Document describes a procedure that serves as a tool for the competent inspection authorities in order to verify the suitability of the *Listeria monocytogenes* shelf-life studies prepared by food business operators dedicated to the manufacturing, packaging and repackaging of ready-to-eat foods.

The Document collects the existing information around the shelf-life studies and describes a procedure for the verification of said studies, including a checklist which enables the compliance with different requirements of the presented studies to be checked.

The Excellence Network for quantitative biological risk assessment in Spain, BIOQURA, prepared a series of practical examples, of which a brief description is collected in the present report.

The Scientific Committee concludes that the Guidance Document is adequate, at present, for the purpose established. This Document should be regularly updated in light of the experience obtained from its application, progress in scientific knowledge, changes in the legislation and guidelines on this type of studies which may be developed at national or European Union level.

### **Key words**

Shelf-life studies, Ready-to-eat foods, *Listeria monocytogenes*.

## 1. Introducción

El Reglamento (CE) N° 2073/2005 (UE, 2005) establece en su artículo 3 que los explotadores de empresas alimentarias responsables de la fabricación de alimentos listos para el consumo tienen la obligación legal de realizar estudios de vida útil para investigar el cumplimiento de los criterios microbiológicos cuando dichos alimentos puedan suponer un riesgo para la salud pública en relación con *Listeria monocytogenes*.

La Agencia Española Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y varias comunidades autónomas han creado un grupo de trabajo para la elaboración de un “Documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación a *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo” (en adelante el Documento de orientación) en el que se describe un procedimiento que sirva de herramienta a las autoridades competentes de inspección para verificar la idoneidad de los estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes* elaborados por los operadores de empresas alimentarias dedicadas a la fabricación, envasado y reenvasado de alimentos listos para el consumo.

Se ha solicitado a la Sección de Seguridad Alimentaria y Nutrición del Comité Científico de la AESAN que revise el Documento, haga las aportaciones que considere oportunas y proponga ejemplos prácticos para una mejor comprensión y aplicación por parte de las autoridades competentes de inspección.

## 2. Evaluación de la propuesta de Documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación a *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo

La propuesta de Documento de orientación recopila, por un lado, la abundante información existente en torno a los estudios de vida útil, tanto normativa como de desarrollo de dicha legislación, sintetizándola en un texto relativamente breve y, por otro lado, describe un procedimiento para la verificación de estos estudios. Por estos motivos, se considera pertinente y puede resultar de gran utilidad e interés para sus destinatarios finales.

El Documento incluye una introducción y apartados describiendo el objetivo, la base legal y los documentos de referencia. Se incluye un apartado de categorías de alimentos listos para el consumo que pueden favorecer o no el desarrollo de *Listeria monocytogenes* de acuerdo con lo establecido en el anexo I del Reglamento (CE) N° 2073/2005. Además hay apartados destinados a los estudios de vida útil: tipos de estudios (desarrollados por una empresa o por colaboración con otras empresas) e información relevante que debe proporcionarse. Finalmente, el Documento de orientación contiene cuatro anexos con las especificaciones de los distintos tipos de estudios de vida útil, la tecnología de los obstáculos o de barreras, un árbol de decisiones para la clasificación de los alimentos en los grupos establecidos en el Reglamento (CE) N° 2073/2005 y un listado de revisión para que los inspectores de control oficial puedan chequear el cumplimiento de distintos requisitos de los estudios presentados.

El Comité revisó el Documento de orientación y realizó diversas observaciones tales como separar más claramente el procedimiento de verificación de otras informaciones de tipo general,

evitar reiteraciones o relacionar más expresamente el procedimiento de verificación con la lista de revisión de uno de los anexos. Las listas de revisión pueden convertirse en la herramienta con la que contarían las autoridades competentes de inspección para realizar su labor. No obstante, dada la diversidad de situaciones que pueden darse y la dificultad que entraña la interpretación de si un estudio de vida útil que presenta una empresa está bien elaborado o no, las listas de revisión podrían tener una utilidad limitada en algunas de esas posibles situaciones. En este sentido, podría resultar de utilidad que, para las preguntas del listado para las que se estime necesario, se incluya una referencia al apartado del Documento en el que se trata esa cuestión, o bien una explicación de la cuestión.

Se recomienda también hacer mención específica al documento guía para evaluar la competencia de los laboratorios que realizan estudios de vida útil en relación con *L. monocytogenes* (ANSES, 2018) en diversos puntos del Documento de orientación. Se recomienda incluso incluir, como nuevo anexo al Documento de orientación, el anexo 2 del citado documento, que incluye una lista de revisión para evaluar la competencia técnica de los laboratorios que realizan ensayos de desafío.

Respecto a la petición de proponer ejemplos prácticos que ilustren algunas de las posibles situaciones que pueden darse, y tratar de reducir la incertidumbre ante la que pueden encontrarse las autoridades competentes de inspección, el grupo de trabajo del Comité Científico responsable del presente informe contactó con la Red de Excelencia de evaluación cuantitativa de riesgos biológicos en España, BIOQURA, que se mostró dispuesta a elaborar dichos ejemplos prácticos.

### 3. Ejemplos prácticos

Se asume que los estudios específicos de laboratorio han sido realizados por laboratorios que cumplen la guía "EURL Lm Guidance document: competence of laboratories implementing Lm self-life studies V2 - 7 May 2018" (ANSES, 2018).

Los ejemplos de los estudios de vida útil se han preparado en función de las preguntas del árbol de decisiones. A continuación se muestra una breve descripción de los ejemplos desarrollados:

- Así, para la primera pregunta del árbol, "¿el productor o el fabricante destina el alimento para su consumo directo sin necesidad de cocción u otro tipo de tratamiento eficaz para eliminar o reducir *Listeria monocytogenes* a un nivel aceptable?", se han preparado dos ejemplos de productos que requieren calentamiento antes de su consumo y plantean la duda de si son listos para el consumo o no: uno se trata de una lasaña precocinada y congelada que el consumidor tiene que, según las instrucciones del fabricante, calentar en microondas. El otro un arroz tres delicias que el consumidor tiene que calentar en sartén. La cuestión es si este calentamiento es suficiente para reducir *L. monocytogenes* hasta un nivel aceptable (>6 ciclos log). Tras analizar los resultados de penetración de calor en los productos, se observa que el calentamiento del microondas de la lasaña no garantizaría dicha reducción. Por lo tanto, desde este punto de vista, se consideraría como alimento listo para el consumo y tendría que cumplir el criterio microbiológico aplicable a este grupo de alimentos. En el caso del arroz tres delicias, el calentamiento garantizaría la reducción de *L. monocytogenes*, por lo que no se consideraría alimento listo para consumo y no le aplicaríamos el criterio microbiológico de *L. monocytogenes*.

- Para la segunda pregunta, “¿el ALC (alimento listo para el consumo) pertenece a la categoría de alimentos en la cual es bastante probable la ausencia de *L. monocytogenes* o su crecimiento es limitado?”, se ha preparado un ejemplo consistente en un elaborado cárnico cocinado a vacío (*sous-vide*) en el que se aplica un tratamiento térmico que logra inactivar más de 5 ciclos logarítmicos de *L. monocytogenes* sobre el alimento previamente envasado y, a priori, sin posibilidad de recontaminación posterior. En este caso, a pesar de tratarse de un alimento listo para el consumo, en circunstancias normales, no se exigiría realizar pruebas regulares para este criterio.
- En relación a la cuarta pregunta, “¿comparando las características del alimento con la bibliografía científica, hay evidencias de que *L. monocytogenes* no crece en el alimento?”, se han preparado dos ejemplos. Un ejemplo doble que pretende evidenciar la importancia de la variabilidad inherente al producto. El ejemplo consiste en el estudio de las especificaciones de las características físico-químicas de dos productos a base de ensaladilla rusa y, en concreto, de su pH, que es inferior pero próximo al de 4,4, límite de crecimiento de *L. monocytogenes*. Uno de los productos presenta un rango de pH muy estrecho, todo por debajo del límite de 4,4 y, por tanto, se consideraría que *L. monocytogenes* no crece en ese alimento y se aplicaría el límite de 100 UFC/g durante toda su vida útil. El otro presentaría una variabilidad mucho más amplia, con parte del intervalo por encima del pH 4,4, por lo que presentaría dudas en cuanto al posible crecimiento de *L. monocytogenes* y sería necesario realizar estudios de vida útil complementarios. El otro de los ejemplos incluye un alimento, queso feta, que no está incluido a priori entre los que no permiten el crecimiento de *L. monocytogenes*, pero en el que la bibliografía demuestra que no puede crecer.
- En la quinta pregunta, “¿se ha realizado una microbiología predictiva (elaboración de modelos)?”, también se ha preparado un ejemplo doble, para poner de manifiesto un uso adecuado y otro inadecuado de la microbiología predictiva. En los dos casos, el modelo predictivo utilizado es apropiado para realizar el estudio, pero en uno de los casos (queso fresco), la empresa utiliza una temperatura de almacenamiento demasiado baja, por lo que el estudio no se considera adecuado. El otro caso, *sashimi* de salmón envasado en atmósfera modificada, representa un uso adecuado de la microbiología predictiva, que demuestra que no se superarán las 100 UFC/g de *L. monocytogenes* al final de la vida útil del alimento.
- Para la sexta pregunta, “¿hay un histórico de datos apropiado y suficiente sobre el crecimiento de *L. monocytogenes* en el producto o se han realizado estudios de durabilidad según se describe en el documento de orientación técnico del Laboratorio Comunitario de Referencia sobre los estudios de vida útil para *L. monocytogenes* en los alimentos listos para el consumo?”, se ha preparado un ejemplo sobre un estudio de durabilidad, realizado sobre una ensalada tipo taboulé, con el que demostrar el número mínimo de unidades que debería incluir la empresa en este estudio para garantizar que no se supera el límite de 100 UFC/g durante la vida útil del alimento.
- Y por último, en la séptima pregunta, “¿se ha realizado un ensayo de desafío según se describe en el documento de orientación técnico del Laboratorio Comunitario de Referencia sobre

los estudios de vida útil para *L. monocytogenes* en los alimentos listos para el consumo?”, de nuevo se han utilizado dos ejemplos, con ensalada de col y paté. Ambos son ensayos de desafío para valorar el potencial de crecimiento. En el primero se demuestra que no favorece el crecimiento de *L. monocytogenes* mientras que el segundo sí que lo favorece.

En todos los ejemplos se comentan las condiciones adecuadas de realización del estudio y, en el caso de que el estudio no sea suficiente, se dan las indicaciones para llegar a un resultado satisfactorio.

#### **4. Evaluación del Documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación a *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo**

La AESAN elaboró un nuevo Documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación a *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo que incorpora las sugerencias del Comité Científico en cuanto a la estructura del Documento, las listas de revisión y las menciones al documento guía para evaluar la competencia de los laboratorios que realizan estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes*.

La conclusión final del Comité Científico es que el Documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación a *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo es adecuado, en el momento actual, para el fin previsto.

El Documento de orientación deberá actualizarse a la luz de la experiencia de su aplicación, los avances en los conocimientos científicos, los cambios en la legislación y las directrices sobre este tipo de estudios que puedan establecerse a nivel nacional o de la Unión Europea.

#### **Agradecimientos**

El Comité Científico agradece a la Red Temática de Excelencia de evaluación cuantitativa de riesgos biológicos en España (BIOQURA) la elaboración de los ejemplos de estudios de vida útil para el Documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación a *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo.

#### **Referencias**

- ANSES (2018). Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. European Union Reference Laboratory for *Listeria monocytogenes* EURL Lm Guidance Document to evaluate the competence of laboratories implementing challenge tests and durability studies related to *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Version 2 - 7 May 2018.
- UE (2005). Reglamento (CE) N° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. DO L 338 de 22 de diciembre de 2005, pp: 1-26.