

Impacto de FSMA en el Compostaje de Sustratos para la Producción de Hongos

Bajo la Ley de Modernización de la Inocuidad de los Alimentos (FSMA, por sus siglas en inglés) los productores de hongos tienen que reconocer peligros potenciales a la inocuidad de los alimentos y establecer medidas de control.



La Ley de Modernización de la Inocuidad de los Alimentos (FSMA) (P.L. 111-353) es considerada la reforma más importante de las leyes sobre la inocuidad de los alimentos en más de 70 años. El objetivo de la ley es cambiar la manera en que nosotros como país, garantizamos la inocuidad del suministro de nuestros alimentos. En lugar de responder ante un evento de contaminación o un brote de enfermedades transmitidas por los alimentos, la industria de los alimentos tiene ahora el reto de reconocer proactivamente en sus operaciones los riesgos potenciales a la inocuidad de los alimentos y establecer las medidas de control para prevenir que ocurran. La complejidad de este cambio de pensamiento es evidente en el momento del proceso de elaboración de normas. La ley fue firmada por el Presidente Obama el 4 de enero del 2011 y la FDA tardó dos años en empezar a publicar los documentos preliminares para que el público hiciera comentarios. Aunque cada una de las normas que conforman FSMA pueden afectar a la industria de los hongos, la norma propuesta "estándares para el cultivo, cosecha, empaque y almacenamiento de productos agrícolas frescos para consumo humano" (Norma de Inocuidad de los Productos Agrícolas Frescos) (FDA 2013) tendrá el impacto más directo para los productores de hongos.

Los estándares de la Norma de Inocuidad de los Productos Agrícolas Frescos incluyen requisitos para controlar los peligros potenciales a la inocuidad de los alimentos en las áreas donde es más probable que ocurra la contaminación. Estos incluyen:

1. El agua que tiene contacto con el cultivo que es usada en el riego y para otros fines en la producción agrícola.
2. Higiene de los trabajadores en la huerta.
3. Condiciones de saneamiento que afectan los edificios, el equipo y las herramientas.
4. Uso de mejoradores de suelo que contienen estiércol de origen animal.

El enfoque preventivo de la FDA para asegurar la inocuidad de los productos agrícolas frescos está estrechamente alineado con el programa de las Buenas Prácticas Agrícolas para la Producción de Hongos (MGAP, por sus siglas en inglés) el cual es un conjunto de estándares de inocuidad de los alimentos desarrollado por el American Mushroom Institute y el Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Universidad de Penn State (Penn State Department of Food Science). Los principios centrales del programa de MGAP son:

1. Se favorece la prevención de los peligros de inocuidad de los alimentos sobre la dependencia de las acciones correctivas después de que ha ocurrido un problema.
2. Los hongos pueden contaminarse en cualquier punto entre el cultivo y el envío.
3. El uso de productos de origen animal en el sustrato, recubrimiento (*casing*) o preparación del suplemento debe manejarse con cuidado para minimizar el potencial de contaminación microbiana de los hongos.
4. Las prácticas de higiene de los trabajadores y de saneamiento del campo juegan un papel muy importante para minimizar el potencial de contaminación microbiana de los hongos.
5. El agua es una fuente potencial de contaminación durante el cultivo de hongos y su manejo posterior.

Quizá al principio de la lista de la FDA de los problemas de la inocuidad de los alimentos en las huertas está el uso de estiércol de origen animal sin tratar y compostado para acondicionar y proporcionar nutrientes a los suelos agrícolas.



El estiércol de origen animal es una fuente probable de patógenos humanos y la contaminación de cultivos con heces de animales ha estado asociada con brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos. Los estándares de inocuidad de los productos agrícolas frescos proponen establecer un intervalo de 9 meses entre la aplicación de estiércol sin tratar y la cosecha. Cualquier tratamiento de compostaje que pretenda reducir los niveles de microorganismos patógenos humanos tiene que estar científicamente validado, controlado, procesado física y/o químicamente o hecho mediante un proceso de compostaje que cumpla o exceda los estándares microbianos especificados en la Norma. Los límites microbianos para la composta están ligados a los criterios de si puede tener contacto con el cultivo y el tiempo entre el tratamiento y la cosecha. La norma preliminar establece que los proveedores de composta deberán documentar que su tratamiento cumple con los estándares microbianos. A quienes preparan la composta en la huerta se les pedirá que documenten que las condiciones de tiempo y temperatura de un proceso validado se logren de manera consistente.

No hay casos conocidos de enfermedades atribuidos al consumo de hongos frescos cultivados en Norteamérica. Por lo tanto, es probable que el uso industrial de estiércol de caballo y aves para la formulación de sustrato en el cultivo de hongos sea seguro. Sin embargo, la ausencia de evidencia no es evidencia de ausencia y el nuevo enfoque normativo de la FDA requerirá que la industria de los hongos muestre evidencia científica de que el compostaje comercial es capaz de eliminar los patógenos humanos en estiércol sin tratar. Las investigaciones hechas en el Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Universidad de Penn State dan algunas respuestas sobre el tema del destino de los patógenos humanos durante la fase II del compostaje del sustrato para el cultivo de hongos. Los resultados de esta investigación se publicaron en agosto del 2013 en el *Journal of Food Protection* en el artículo titulado "Inactivación de patógenos humanos durante la fase II del compostaje de sustrato a base de estiércol para el cultivo de hongos" (Weil *et al*, 2013) y los resultados de este estudio se resumen a continuación.

Estudio de validación del sustrato en la fase II

Se preparó un cultivo con una mezcla de tres bacterias patógenas: *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* spp. a niveles de aproximadamente 10⁸ unidades formadoras de colonias (UFC)/ml en la planta piloto de inocuidad de los alimentos de la Universidad de Penn State y esto se inoculó en sustrato para la producción de hongos al finalizar la fase I del compostaje. El sustrato inoculado (2.5 kilos) se colocó en bolsas de polipropileno ventiladas y se llevaron al Centro de Investigación en Hongos de la Universidad de Penn State (MRC, por sus siglas en inglés) donde se colocaron al centro de una cama estándar de madera para la producción de hongos (24 X 24 X 12 pulgadas). Cada una de las bolsas se relleno con sustrato fase I sin inóculo hasta llegar a la capacidad de la bandeja. Las bandejas se sometieron a un tratamiento estándar de fase II de 6 días que incluía un intervalo de pasteurización de 2 horas a 140°F. Los niveles microbianos para cada uno de los tres patógenos en el sustrato inoculado se determinaron antes y después de la fase II. Los niveles de otros microorganismos que pudieran indicar contaminación, pero necesariamente son patógenos (*E. coli*, coliformes, *Enterobacteriaceae*, conteo de aerobios totales en placa) se determinaron por separado en el sustrato no inoculado antes y después de la fase II.

La Tabla 1 muestra las poblaciones de cada uno de los microorganismos patógenos y de los indicadores microbianos antes y después de la fase II del compostaje. No se encontraron patógenos en las muestras no inoculadas. Los niveles iniciales de *L. monocytogenes*, *Salmonella* spp. y *E. coli* O157:H7 después de la inoculación fueron de 7.2 a 8.1 log UFC/g. Después de la fase II del compostaje, no se detectó ningún patógeno por conteo directo en placa ni por algún método de enriquecimiento más sensible. Los niveles de *E. coli* genérica, coliformes y *Enterobacteriaceae* estaban todos por debajo del nivel detectable. En contraste, el conteo de microorganismos aerobios en placa inició en 9 log UFC/g, disminuyó en menos de dos unidades logarítmicas durante la fase II del compostaje. El alto nivel de aerobios en placa después de la fase II del compostaje puede atribuirse a la supervivencia selectiva de bacterias no patógenas termofílicas y hongos resistentes al calor.

También se estudió la supervivencia de patógenos a temperaturas más bajas en la fase I del sustrato inoculado y de los microorganismos indicadores en el sustrato no inoculado colocando bolsas de polipropileno selladas al vacío en un baño de agua a temperatura controlada. El tiempo mínimo donde los patógenos ya no fueron detectados por conteo en placa ni en medio de enriquecimiento a 120, 130 y 140°F fueron 36.0, 8.0 y 0.5 horas, respectivamente. *L. monocytogenes* y *E. coli* O157:H7 fueron más resistente a calor que *Salmonella* spp., *E. coli* genérica, coliformes totales y *Enterobacteriaceae*. Esto indica que el conteo de microorganismos indicadores no es adecuado para confirmar la destrucción completa del patógeno durante la fase II del compostaje. En cambio, el conteo de los niveles de *L. monocytogenes* y/o *E. coli* O157:H7 podría ser necesario para verificar la efectividad del compostaje fase II

como control preventivo de la inocuidad de los alimentos.

Estudio de verificación del sustrato en la fase II

Como seguimiento de los estudios de inoculación de microorganismos patógenos, se llevó a cabo la evaluación del sustrato de hongos post fase II en 12 hongueras en el estado de Pensilvania. Se tomaron muestras del sustrato terminada la fase II en tres túneles y nueve camas de los cuartos/casas de producción de hongos usando los métodos de muestreo de composta descritos en el: Título 14 de California, Código de Regulaciones de California – Capítulo 3.1, Artículo 7 – Requisitos Regulatorios para las Operaciones de Compostaje (*California Title 14, California Code of Regulations - Chapter 3.1, Article 7 - Composting Operations Regulatory Requirement*) y que están referenciados en los lineamientos de inocuidad de los alimentos para la producción y cosecha de vegetales de hoja verde (LGMA Metrics, 2012).

En cada honguera se tomaron muestras de 12 puntos distribuidos de manera uniforme en todo el túnel o el cuarto/casa de producción. Se tomaron muestras de la periferia del sustrato a medida que salía del túnel en dos túneles continuos. Se muestreó un tercer túnel del tipo lote en 12 ubicaciones espaciadas de manera uniforme mientras éste era vaciado por un cargador frontal. En los cuartos/casa de cultivo, las muestras se tomaron aproximadamente a 6 pulgadas del centro frontal de un cuadrado a una profundidad de aproximadamente 6 pulgadas. En cada punto de muestreo las muestras de sustrato (aproximadamente 500 gramos) se tomaron con la mano cubierta con un guante y se depositaron en bolsas Whirl-Pak estériles de 55 oz. dejando espacio suficiente para doblar y sellar el corbatín. Las bolsas se empacaron en una caja de cartón junto con dos paquetes de hielo con espuma congelada colocados encima y por debajo de las capas de bolsas para prevenir cambios en los niveles de microorganismos. Las cajas se enviaron usando el servicio día siguiente del correo a un laboratorio comercial para su análisis microbiológico.

Se determinaron las poblaciones microbianas usando métodos establecidos por la FDA o la AOAC, considerando el conteo de aerobios totales en placa, coliformes, *E. coli* genérica y procedimientos de enriquecimiento para ausencia o presencia de *Listeria* spp. y *Salmonella* spp.

Los resultados de la evaluación microbiana se muestran en la Tabla 2. En ninguna de las muestras de sustrato fase II de las 12 hongueras se encontraron niveles detectables de coliformes, *E. coli* genérica, *Salmonella* spp. o *Listeria* spp. Como se esperaba, el conteo de aerobios en placa en cada honguera fue alto, con valores de entre 5.9 y 6.8 log UFC/g para las camas de cultivo y de 7.1 a 8.4 log UFC/g para los túneles. Como se discutió anteriormente, estos niveles muy probablemente representen microorganismos termófilos benéficos que sobreviven y crecen a las temperaturas de compostaje.

Conclusiones y recomendaciones

De la forma en que el borrador de la norma está actualmente escrito, se requiere que los proveedores comerciales de sustrato fase II proporcionen datos de verificación a través de análisis microbiológico, para la ausencia de microorganismo patógenos humanos. De acuerdo a los estudios aquí descritos, no deberían tener dificultad para cumplir los estándares de la FDA. Aunque el análisis microbiológico para el compostaje de fase II no será un requisito para la honguera, los productores deberán registrar los datos de tiempo y temperatura para verificar siguen el proceso validado. Por supuesto, esto es algo que los productores ya hacen y no debería imponer una nueva práctica en sus operaciones.

Más allá de los requisitos de la FDA, los productores deberían considerar estudios internos para encontrar posibles puntos fríos en los túneles o en las camas de cultivo. Se deberían colocar sondas de monitoreo de temperatura en estas áreas para asegurarse de que las temperaturas letales del compostaje se alcanzan en todos los puntos del sustrato. Un posible beneficio adicional para este ejercicio podría ser la destrucción más completa de las plagas para los hongos y los hongos patógenos que afectan el rendimiento y la calidad de los cultivos. Aunque la FDA no exige análisis microbiológicos a los productores de hongos, se podrían hacer análisis de verificación para *L. monocytogenes* una vez al año o en cualquier momento en que se realicen cambios importantes en el tipo y proporción de las materias primas. Debido a que el equipo para el control y monitoreo de temperatura es importante para obtener tratamientos térmicos de fase II consistentes, éstos deben recibir el mantenimiento y la calibración de manera regular para asegurarse de que las lecturas son precisas.

Otro estudio llevado a cabo en el Mushroom Test Demonstration Facility (MTDF) de la Universidad de Penn State mostró que *Listeria* spp. puede establecerse en el ambiente de la honguera (Viswanath y otros, 2013). Por lo tanto, cuando el compostaje de la fase I se lleva a cabo en el mismo lugar que el cultivo de hongos, deben seguirse estrictamente los estándares MGAP para prevenir la contaminación cruzada. Éstos incluyen mantener las áreas de recepción y manejo del estiércol de caballo con paja y el estiércol de aves de corral separadas físicamente de las áreas donde se cultivan y manejan los hongos, donde se reciben y almacenan los ingredientes para hacer el recubrimiento (*casing*) y de las áreas de embarque de los hongos. La potencial contaminación cruzada por escurrimiento, plagas, viento o movimiento del equipo y los trabajadores en la honguera debe evaluarse periódicamente y se deben hacer ajustes correctivos según sea necesario.

Agradecimientos

Se reconoce a los doctores David Beyer y John Pecchia del Departamento de Fitopatología y Microbiología Ambiental de la Universidad de Penn State por su apoyo para la toma de muestras del sustrato de la fase II de huertas productoras de hongos en Pennsylvania.

Referencias

- FDA. 2013. [Proposed Rule: Standards for the Growing, Harvesting, Packing, and Holding of Produce for Human Consumption](#). Docket Number: FDA-2011-N-0921. January 2013. Accessed 2 August 2013.
- LGMA. 2012. California Leafy Green Handler Marketing Board. [Commodity specific food safety guidelines for the production and harvest of leafy greens](#). California Leafy Green Products Handler Marketing Agreement. Accessed 2 August 2013.
- Viswanath PL, Murugesan L, Knabel SJ, Verghese B, Chikthimma N, LaBorde LF. 2013. Incidence of *Listeria monocytogenes* and *Listeria* spp. in a small-scale mushroom production facility. *Journal of Food Protection*, 76:608-615.
- Weil JD, Cutter CN, Beelman RB, LaBorde LF. 2013. Inactivation of human pathogens during phase II composting of manure-based mushroom growth substrate. *Journal of Food Protection*, 76:1393-1400.

Apéndice

Tabla 1. Destrucción de *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 y *Salmonella* en sustrato inoculado y microorganismos indicadores en sustrato no inoculado durante el compostaje fase II.

	Población microbiana (log UFC/g) a después de la fase I	Población microbiana (log UFC/g) a después de la fase II
Microorganismos patógenos inoculados		
<i>L. monocytogenes</i>	7.95 + 0.21	nd bc
<i>E. coli</i> O157:H7	7.95 + 0.21	nd bc
<i>Salmonella</i> spp.	7.40 + 0.28	nd bc
Microorganismos indicadores		
<i>E. coli</i>	4.70 +/- 0.14	nd b
Coliformes totales	5.10 +/- 0.28	nd b
<i>Enterobacteriaceae</i>	5.80 +/- 0.28	nd b
Conteo de aerobios en placa	8.75 +/- 0.35	6.90 +/- 0.43

a media + desviación estándares de la media de población de bacterias. Las poblaciones tuvieron diferencia significativa entre el antes y el después de la fase II de compostaje para todos los microorganismos ($\alpha = 0.05$). b negativo por método directo en placa (<1.0 log UFC/g). c negativo por método de enriquecimiento (<1 célula/10 g). nd no detectado

Tabla 2. Poblaciones de microorganismos patógenos humanos y microorganismos indicadores en muestras de sustrato tomadas en hongueras comerciales después de la fase II del compostaje.

Huerta	Tipo fase II	Población microbiana (log UFC/g)				
		CAP	Coliformes	<i>E. coli</i> genérica	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Listeria</i> spp.
A	Túnel	8.36	nd a	nd a	nd b	nd b
B	Túnel	7.98	nd a	nd a	nd b	nd b
C	Túnel	7.11	nd a	nd a	nd b	nd b
D	Cama	6.78	nd a	nd a	nd b	nd b
E	Cama	6.00	nd a	nd a	nd b	nd b
F	Cama	6.26	nd a	nd a	nd b	nd b
G	Cama	6.56	nd a	nd a	nd b	nd b
H	Cama	6.60	nd a	nd a	nd b	nd b
I	Cama	6.81	nd a	nd a	nd b	nd b
J	Cama	6.32	nd a	nd a	nd b	nd b
K	Cama	5.85	nd a	nd a	nd b	nd b
L	Cama	6.48	nd a	nd a	nd b	nd b

a no detectado por método directo en placa b no detectado por método de enriquecimiento nd = no detectado

Luke F. LaBorde. Profesor Asociado. Departamento de Ciencia de los Alimentos, Universidad de Penn State.

In: Mushroom News. 61(9):10-13. Septiembre 2013.

Authors

Luke LaBorde, Ph.D.

Professor of Food Science

lf15@psu.edu

814-863-2298

extension.psu.edu

Penn State College of Agricultural Sciences research and extension programs are funded in part by Pennsylvania counties, the Commonwealth of Pennsylvania, and the U.S. Department of Agriculture.

Where trade names appear, no discrimination is intended, and no endorsement by Penn State Extension is implied.

This publication is available in alternative media on request.

Penn State is an equal opportunity, affirmative action employer, and is committed to providing employment opportunities to all qualified applicants without regard to race, color, religion, age, sex, sexual orientation, gender identity, national origin, disability, or protected veteran status.

© The Pennsylvania State University 2020

Code: ART-5662