



Estudio Comparativo de los Sistemas Comerciales de Monitoreo de Higiene por ATP

La evaluación más completa de los productos de monitoreo de higiene por ATP fué completada por uno de los principales laboratorios de referencia de alimentos y bebidas del mundo. El propósito del estudio fue observar el desempeño de 5 sistemas ATP diferentes, las tecnologías usadas y cómo estos sistemas trabajaron con diferentes muestras. Mediante la aplicación de métodos científicos aprobados, Hygiena espera que este estudio se convierta en la base de nuevos estudios que evalúen la tecnología ATP.

Vista General

1. Alcance del estudio
2. Componentes de un sistema de ATP
3. Resultados de desempeño basados en criterios de estudio
4. Resumen

Sistemas Evaluados



BioControl Lightning MVP



Charm Science NovaLum



Hygiena SystemSURE Plus



Neogen Accupoint



3M Unilite NG Cleantrace

Nota:

Esta presentación fue preparada por Hygiena y se basa en los datos generados a partir del informe “Evaluación del Desempeño de Varias Unidades de Detección de ATP” (“Performance Evaluation of Various ATP Detecting Units”) realizado por Silliker Inc. con el Informe RPN 13922 (2010) del Centro de Ciencias Alimentarias (Food Science Center). Las conclusiones presentadas en este artículo de investigación se basan en los datos del informe de Evaluación del Desempeño de Varias Unidades de Detección de ATP. Silliker, Inc. no promociona ni respalda las declaraciones de esta hoja de información de comercial, pero sí respalda todos los datos y declaraciones realizados en el informe de Evaluación de Desempeño de Varias Unidades de Detección ATP realizado por Silliker Inc. con el Informe RPN 13922 (2010) del Centro de Ciencias Alimentarias. El informe completo está disponible en Hygiena bajo solicitud.

Alcance del Estudio

Determinar el desempeño de los principales sistemas de ATP para la detección de ATP, residuos de alimentos y microorganismos

El objetivo de la bioluminiscencia de ATP para monitorear la higiene es proveer una prueba simple, rápida, directa y objetiva para verificar la limpieza. Es una prueba indicadora, precisa y sensible para determinar instantáneamente el estado higiénico y riesgo potencial del objeto muestreado.

A diferencia de las pruebas microbiológicas que demoran días en dar resultados, las pruebas de ATP brindan información valiosa en segundos. Los resultados del monitoreo de higiene de ATP de superficie son diferentes a los de los métodos de enumeración microbiana y brindan información adicional que las pruebas microbianas no pueden proporcionar.

Las pruebas de ATP no están destinadas a reemplazar las pruebas microbianas ambientales, sino que se deben usar además de tales pruebas. Al hacer esto, se puede reducir la cantidad de pruebas microbianas ambientales y verificar la eficacia de los programas de limpieza en segundos en vez de días. Existe una correlación directa simultánea entre los resultados de estos dos métodos, porque la limpieza al mismo tiempo elimina los residuos orgánicos y microorganismos.

Métricas de Desempeño

Las métricas de desempeño clave evaluadas:

1. Linealidad
2. Repetibilidad
3. Sensibilidad
4. Precisión

Criterios de Desempeño

3 criterios diferentes fueron seleccionados. Esto fue considerado por el laboratorio de referencia e Higiene para ser el análisis más completo y exhaustivo realizado hasta la fecha en los sistemas de ATP. Todos los instrumentos y dispositivos de prueba fueron comprados por el laboratorio de referencia de los fabricantes originales para mantener la integridad del funcionamiento del sistema.

1. Estudio de Dilución en Serie de ATP-Se pipetearon diluciones seriadas de ATP directamente en el punto de recolección de muestras de cada dispositivo de prueba. Al utilizar ATP como control, se eliminan la variabilidad del usuario y de la muestra. Además, se pipeteó ATP en el área de lectura de cada dispositivo para medir qué cantidad de la reacción de ATP se pierde debido a la interferencia de la punta del hisopo. La diferencia en las lecturas de los dos experimentos muestra la precisión del sistema. Neogen quedó fuera de la segunda parte de esta prueba debido a la imposibilidad de acceder al área de lectura del dispositivo.
2. Diluciones de Productos Alimenticios-se seleccionaron 4 grupos de alimentos y se prepararon diluciones en serie de cada uno. Para la primera parte, las diluciones se pipetearon directamente en el punto de recolección de muestras de cada dispositivo de prueba y en la segunda parte, se secaron en superficies de acero inoxidable para reproducir las condiciones ambientales exactas.
3. Diluciones de Cultivos Microbianos: Diluciones en serie de 6 microorganismos (*Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* y *Staphylococcus aureus* y un cultivo de levaduras, *Saccharomyces cerevisiae*) que son de interés para la industria de alimentos y bebidas fueron cultivadas y fueron probadas en cada sistema.

Componentes de un Sistema de ATP

3 componentes integran un sistema de ATP



Descripción general del sistema de ATP

Un sistema de ATP consta de 3 componentes. Cada uno es una parte crítica en el desempeño general.

1. Instrumento - Luminómetro (Se evaluaron 2 tipos)

- Fotodiodo: sensible, robusto, requiere bajo voltaje de carga, no se descalibra a lo largo del tiempo (reduciendo los costos de mantenimiento y el tiempo de inactividad por no uso). Es de bajo costo y tiene un ruido de fondo bajo.
- Tubo Fotomultiplicador: sensible, frágil, requiere alto voltaje de carga, se descalibra con el tiempo (requiriendo mantenimiento anual). Es caro y tiene un ruido de fondo elevado.

2. Reactivo de Bioluminiscencia (2 variaciones evaluadas)

- Reactivo de Líquido Estable: La nueva tecnología permite una reacción inmediata con la muestra, brinda mayor precisión, exactitud y más consistencia. Menos procesos de manufactura resultan en costos más bajos.
- Reactivo Liofilizado: la tecnología antigua (> 30 años) requiere una costosa fabricación compleja, almacenamiento seco y rehidratación en el punto de uso que tiene una mayor variabilidad.

Todos los reactivos utilizan la enzima luciferasa/luciferina para generar luz. La calidad y cantidad de las enzimas y los otros componentes determinan el desempeño del reactivo.

3. Diseño del Dispositivo de Prueba de ATP

- El diseño del dispositivo de prueba de ATP es una parte fundamental para el desempeño y la usabilidad del sistema. Un buen diseño del dispositivo de prueba tendrá una excelente recolección y contención de la muestra, baja señal de ruido, fácil activación del dispositivo y mezcla de la muestra con el compuesto.
- Todos los dispositivos de prueba tienen un disolvente pre-humedecido en la punta del hisopo para romper las biopelículas y así recolectar y liberar ATP de la muestra.
- Cuatro de los dispositivos de prueba probados utilizan una punta de hisopo (BioControl, Charm Science, Hygiena, 3M) y uno utiliza una punta similar a una esponja (Neogen).
- El paso de activación cuando se produce la mezcla de la muestra y el compuesto también afecta el desempeño y es una parte importante del diseño del dispositivo de prueba. Dos de los dispositivos de prueba evaluados requirieron que la punta del hisopo perforara sellos de aluminio durante la activación (Charm, 3M); tres dispositivos de prueba tuvieron la reacción química con la muestra sin tener que perforar sellos de aluminio (BioControl, Hygiena, Neogen).

5 Sistemas y Componentes

Análisis de cada Sistema

1.



BioControl Lightning MVP y Dispositivo de Muestreo de Superficie MVP

Tipo de Sensor: Sistema basado en tubo fotomultiplicador

Formato del Reactivo: Pellet liofilizado

Punto de Recolección: Hisopo tejido

Paso de Activación: La punta del hisopo no perfora sellos de aluminio para mezclar la muestra y el compuesto

2.



Charm Science Novalum y Pocketswab Plus

Tipo de Sensor: Sistema basado en tubo fotomultiplicador

Formato del Reactivo: Pellet liofilizado

Punto de Recolección: Hisopo de espuma

Paso de Activación: Requiere perforación de sellos de aluminio para mezclar la muestra y el compuesto

3.



Hygiene SystemSURE Plus con dispositivos Ultrasnap y SuperSnap

Tipo de Sensor: Sistema basado en fotodiodo

Formato del Reactivo: Líquido estable

Punto de Recolección: Hisopo tejido

Paso de Activación: La punta del hisopo no perfora sellos de aluminio para mezclar la muestra y el reactivo

4.



Neogen AccuPoint y muestreador de superficie

Tipo de Sensor: Sistema basado en fotodiodo

Formato del Reactivo: Pellet liofilizado

Punto de Recolección: Hisopo de esponja

Paso de Activación: La punta del hisopo no perfora sellos de aluminio para mezclar muestra y el reactivo

5.



3M UniLite NG CleanTrace y dispositivo Clean Trace

Tipo de Sensor: Sistema basado en fotomultiplicador

Formato del Reactivo: Líquido estable

Punto de Recolección: Hisopo tejido

Paso de Activación: Requiere perforación de sellos de aluminio para mezclar la muestra y el reactivo

Sección 1 - Diluciones en Serie de ATP

Resultados de Desempeño

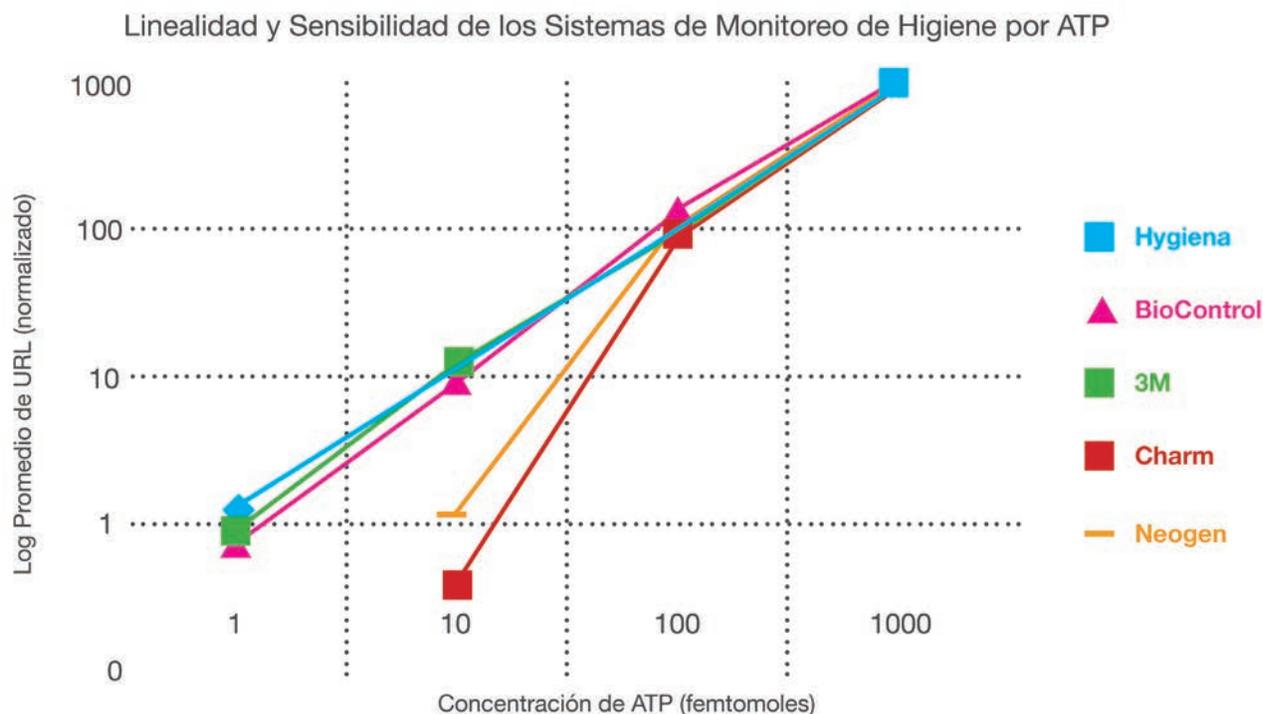
Evaluación de Linealidad

Resumen de la Sección:

Las diluciones en serie de ATP se pipetearon directamente en el punto de recolección de muestras de cada dispositivo de prueba. Al utilizar el ATP como control, se eliminan la variabilidad del usuario y de la muestra y puede ser evaluado el desempeño verdadero del sistema.

Además, se pipeteó ATP en el área de lectura de cada dispositivo para medir qué cantidad de la reacción de ATP se pierde debido a la interferencia de la punta del hisopo. La diferencia en las lecturas de los dos experimentos muestra la precisión del sistema. Neogen no se incluyó en la segunda parte de esta prueba debido al diseño del dispositivo de prueba (vea la página 8).

Linealidad: Expresión de predictibilidad y confiabilidad del resultado



Gráfico

El gráfico de linealidad muestra una relación directa, proporcional y en línea recta entre URL y ATP. La linealidad se describe con el término Coeficiente de Correlación (r) que muestra qué tan bien los datos se aproximan a la relación perfecta ($r = 1.0$) entre ATP y URL. Si existe una relación perfecta, $r = 1.0$, implica que la ecuación lineal describe la relación entre X y Y perfectamente, con todos los puntos de datos en una línea para la que Y (URL) aumenta a medida que X (ATP) aumenta de una manera constante y predecible. Cuanto más cerca de $r = 1.0$ un sistema pueda llegar, los resultados serán más precisos y confiables. Cuanto más lejos de $r = 1.0$ un sistema llegue, menos confiables serán los resultados.

Mejor(es) Desempeño(s)

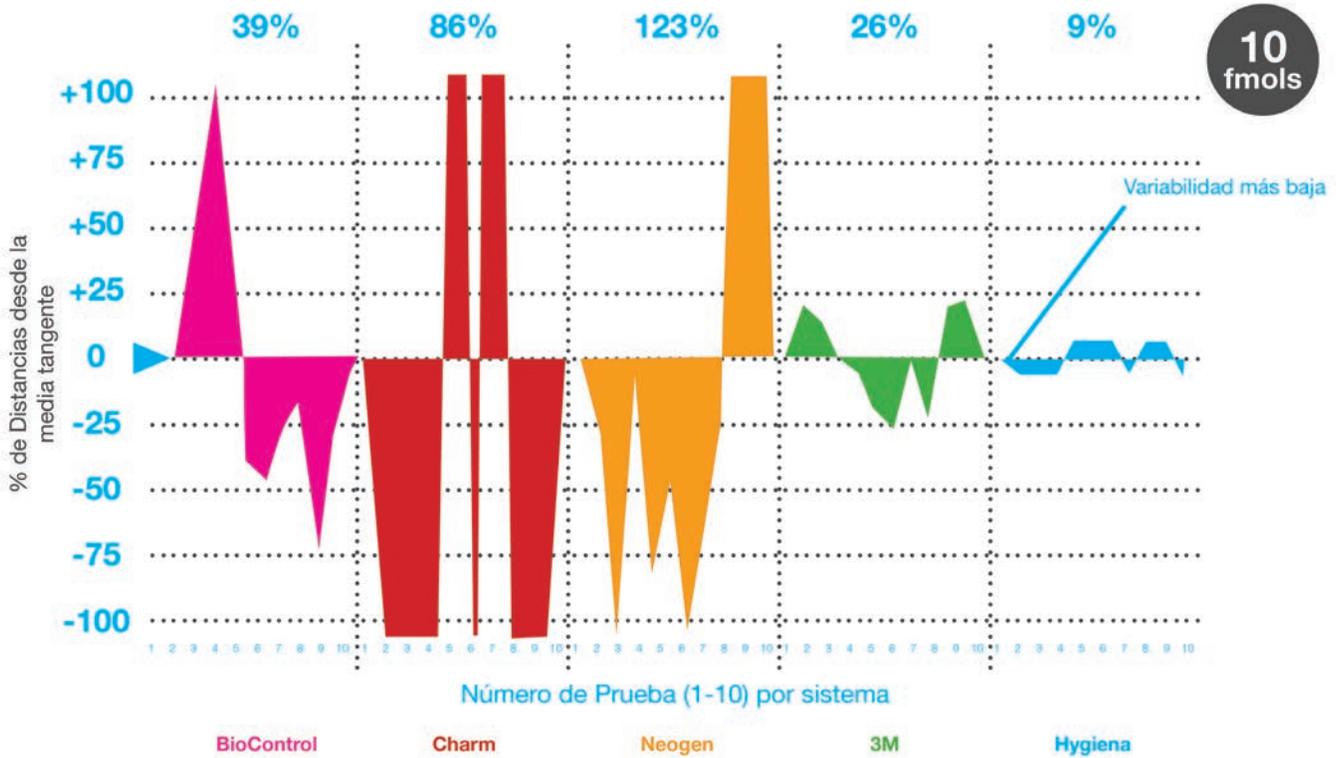
BioControl, Hygiena & 3M todos mostraron buena linealidad para la detección de ATP ($r = 0.98$)

Sección 1 - Continuación

Resultados de Desempeño

Evaluación de Repetibilidad

Repetibilidad: Variabilidad en los resultados con la misma muestra



Gráfico

La repetibilidad se describe con el término Coeficiente de Variación (%CV). Cuanto mayor sea el %CV, mayor será la variabilidad entre cada resultado con la misma muestra. Mayor variabilidad significa que los resultados son menos consistentes y menos confiables. Análisis detallados adicionales revelan diferencias aún mayores entre los sistemas en niveles críticos de 10 y 100 fmoles de ATP donde los límites recomendados de Pasa/Falla generalmente se establecen. Los gráficos muestran que sólo Higiene puede proporcionar resultados confiables de manera constante a bajos niveles de ATP que son necesarios para mantener altos estándares de calidad y seguridad.

Mejor(es) Desempeño(s)

Higiene y Supersnap: CV = 9%

Sección 1 - Continuación

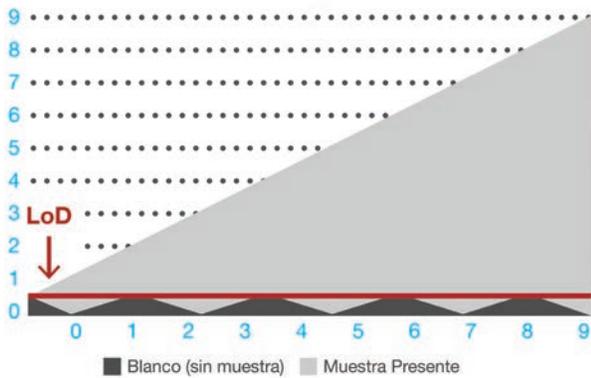
Resultados de Desempeño

Evaluación de la Sensibilidad

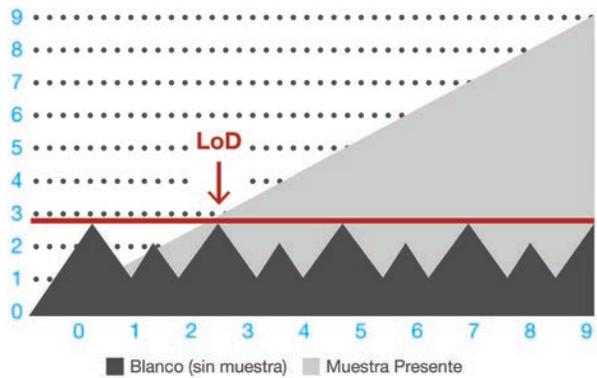
Sensibilidad: Menor cantidad detectable de muestra



Sensibilidad Buena con Bajo Ruido de Fondo



Sensibilidad Pobre con Alto Ruido de Fondo



Gráfico

La sensibilidad se define como el límite de detección (LoD). Es la cantidad más pequeña de ATP detectable por encima del ruido de fondo del sistema. El ruido de fondo es la señal (valor de URL) detectada por el sistema en ausencia de ATP que puede provenir de ambos, de los instrumentos (como interferencia eléctrica) y del reactivo del dispositivo (como interferencia química de impurezas).

Mejor(es) Desempeño(s)

Hygiena SystemSURE Plus & Supersnap: LoD = 0.17 fmoles

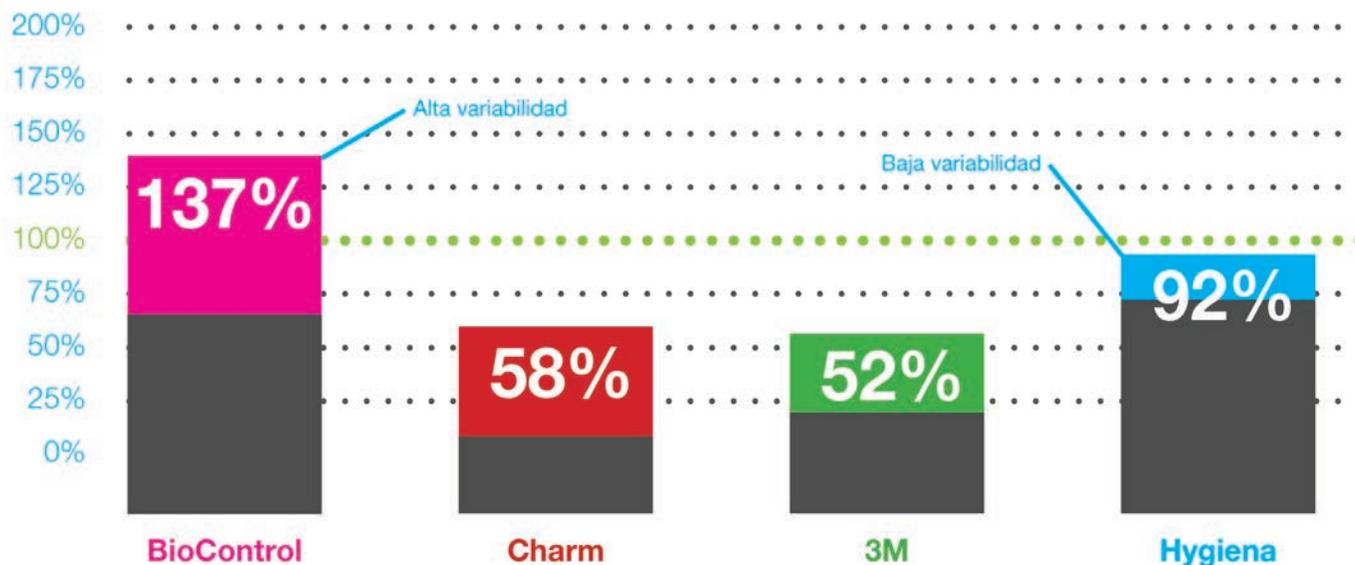
Sección 1 - Continuación

Resultados de Desempeño

Evaluación de la Exactitud

Exactitud: Recuperación y detección de todo el ATP disponible para reflejar el valor de la muestra real.

Recuperación de ATP en el Hisopo (%)



Gráfico

Se añadió ATP (100 fmoles) a cada dispositivo de prueba y se realizaron mediciones (usando 10 repeticiones) para determinar qué cantidad de la muestra disponible realmente se detectó. Si se detectó el 100% del ATP, entonces el sistema es exacto y da un resultado real y significativo. Menos del 100% significa que solo se detectó parte de la muestra debido a alguna interferencia dentro del sistema. Esto significa que el sistema no proporciona un resultado real y no es 100% exacto. Más del 100% indica señal adicional proveniente del dispositivo de prueba.

Mejor(es) Desempeño(s)

Hygiene: 92% de recuperación

Sección 1 - Resumen

Resultados de Desempeño

Evaluación de Linealidad, Repetibilidad, Sensibilidad y Exactitud

Resumen de la Detección de ATP

Sistema	Linealidad (r)	Resultado (URL)		Variabilidad Media global (CV%)	Sensibilidad Límite de detección (fmoles de ATP)
		Blanco (Ruido de fondo a ATP cero)	Máximo (a 1000 fmoles de ATP)		
BioControl Lightning MVP con hisopo Lightning	0.982	283	975,941	39%	1.1
3M UniLite NG con hisopo CleanTrace	0.988	4.3	7386	26%	1.3
Charm Novalum con Pocketswab Plus	0.949	0*	418,517	86%	10.0
Hygiena SystemSURE Plus con hisopo UltraSnap	0.988	0†	1589	28%	1.0
Hygiena SystemSURE Plus con hisopo SuperSnap	0.987	0†	4949	9%	0.17
Neogen Accupoint con hisopo Accupoint	0.976	0*	15,649	123%	10.0

Este cuadro muestra los resultados promedio de la media generales de todos los sistemas para la sección de ATP controlado del estudio. Los resultados muestran que todos los sistemas de ATP tienen una reacción lineal. A medida que se agrega más ATP a la prueba, el resultado de URL aumentará proporcionalmente. Un análisis más detallado de los datos muestra que la variabilidad y la sensibilidad varían de un sistema a otro en un entorno controlado. En el campo, los usuarios y las superficies introducirían más variabilidad, lo que daría lugar a una mayor variabilidad. Por lo tanto, los sistemas con menos variabilidad y mejor sensibilidad darán resultados más exactos y consistentes.

Observaciones de Desempeño

Todos los instrumentos tienen diferentes valores de URL para una cantidad dada de ATP. Una emisión alta de URL no equivale a una mejor sensibilidad o desempeño. El sistema Charm tiene la emisión más alta de URL y la sensibilidad más pobre.

* En la columna de Emisión de URL se denota que el sistema tiene una señal de fondo que debe compensar y que una lectura en ceros en estos sistemas no es un cero real. Estos sistemas fueron los menos sensibles.

† En la columna de Emisión de URL se denota que el sistema tiene un ruido de fondo cero verdadero en hisopos blanco. No hay señal de fondo creada por el sistema o dispositivo de prueba, lo que significa que cualquier señal detectada proviene de la muestra.

Sección 1 - Resumen

Resultados de Desempeño

Evaluación de Linealidad, Repetibilidad, Sensibilidad y Exactitud

Desempeño	Linealidad	Sensibilidad	Repetibilidad	Exactitud
Mejor Desempeño	Hygiena BioControl 3M	Hygiena	Hygiena	Hygiena
Desempeño Promedio	Charm Neogen	BioControl 3M	BioControl 3M	BioControl
Peor Desempeño		Charm Neogen	Charm Neogen	Charm Neogen 3M

“Los hisopos de Hygiena en conjunto son más sensibles al ATP y mejores para detectar bajos niveles de alimentos y microorganismos que todos los demás sistemas.”

Página 3 - Resumen Ejecutivo, Evaluación del Desempeño de Varias Unidades de Detección de ATP.

Sección 2 - Detección de Residuos de Alimentos

Resultados de Desempeño

Resumen de la Sección:

Los sistemas de ATP generalmente se usan como una prueba de verificación de limpieza. Para reproducir un entorno en el que los sistemas se usan habitualmente, 4 alimentos (leche pasteurizada, carne molida, jugo de naranja, ensalada verde mixta) fueron diluidos a bajas concentraciones y se analizaron muestras de 10µL. Además, se agregaron diluciones a las superficies de acero inoxidable y se realizaron pruebas en húmedo y en seco. Las muestras de alimento líquido (jugo de naranja y leche) se diluyeron con agua estéril libre de ATP (v/v). Las muestras de alimentos sólidos (carne molida y verduras para ensalada) se mezclaron primero con 10 g de muestra en 90 mL de agua estéril libre de ATP y luego se diluyeron usando agua estéril libre de ATP (p/p). Todas las muestras analizadas se agitaron

a mano durante 2 minutos para la homogeneización. Para realizar las pruebas de las muestras de alimentos en superficies, 500µL de suspensión de carne molida a 1:10 y diluciones 1:1,000 y 500µL de leche a diluciones 1:1 y 1:1,000 se extendieron uniformemente sobre superficies individuales de acero inoxidable de 4x4 pulgadas y se llevaron a cabo las pruebas inmediatamente después de la preparación. Se preparó un conjunto adicional de superficies de acero inoxidable como se describió anteriormente y se dejó secar a temperatura ambiente por 18-24 horas. Después del secado, cada pieza individual de acero inoxidable fue hisopada y analizada por cada unidad de ATP. Fueron probadas diez repeticiones de cada dilución.

Detección de Residuos de Alimentos



Todos los sistemas mostraron la capacidad de detectar diluciones de alimentos entre 1:100 a 1:1,000 y 10µL. Solo Hygiena y los sistemas BioControl detectaron diluciones de 1:10,000. Los niveles de detección fueron muy dependientes del alimento probado (ver gráficos en la página 12). Hygiena y BioControl fueron los únicos sistemas capaces de detectar los niveles más bajos de todos los alimentos probados.



Todos los sistemas pudieron detectar 500µL a una dilución de 1:1,000 de carne molida y leche seca en una superficie.

Sección 2 -Continuación Resultados de Desempeño

10µL de Suspensión Líquida



Resumen de Detección de Residuos de Alimentos

Desempeño	Linealidad	Sensibilidad	Repetibilidad	Exactitud
Mejor Desempeño	Hygiena BioControl 3M Charm Neogen	Hygiena BioControl	Hygiena BioControl 3M	Hygiena BioControl
Desempeño Promedio		Hygiena 3M	Charm	3M Charm
Peor Desempeño		Charm Neogen	Neogen	Neogen

Sección 3 - Detección de Microorganismos

Resultados de Desempeño

Resumen de la Sección:

Se prepararon y probaron diluciones seriadas de cultivos de 5 bacterias y uno de hongos en cada sistema para determinar los límites de detección.

Los sistemas de ATP están destinados a detectar cantidades muy pequeñas de material orgánico en superficies o en muestras líquidas. Los microorganismos son orgánicos y contienen ATP pero a niveles mucho más bajos que los alimentos. Los microorganismos contienen diferentes cantidades de ATP dependiendo del tipo de microbio, su tamaño y estado de salud. La prueba no puede diferenciar el ATP de los alimentos del ATP microbiano.

Se detectaron todos los organismos y los hongos mostraron la mayor cantidad de ATP porque tienen mayor masa. Hubo una gran variación en los resultados de todos los organismos, pero todos los sistemas mostraron una buena linealidad. Los sistemas de ATP pueden detectar estos microorganismos, pero se demostró que el límite de detección era 10,000 a 100,000 UFC/mL. Esto generalmente no es lo suficientemente sensible para la mayoría de los programas microbianos ambientales.



Resumen de Detección de Microorganismos

Desempeño	Linealidad	Sensibilidad	Repetibilidad	Exactitud
Mejor Desempeño	Hygiena BioControl 3M Charm Neogen	Hygiena	Hygiena 3M	Hygiena
Desempeño Promedio		Hygiena BioControl 3M Charm	Hygiena BioControl Charm	BioControl 3M Charm
Peor Desempeño		Neogen	Neogen	Neogen

Conclusiones

- Se compararon 5 sistemas comerciales de ATP para la detección y medición de ATP, residuos de alimentos y microorganismos.
- Se demostró que todos los sistemas proporcionan una buena respuesta lineal a los 3 tipos de muestra, sin embargo, hubo una diferencia en la sensibilidad, repetibilidad y precisión entre sistemas.
- El sistema más preciso, exacto y repetible fue Hygiena SystemSURE Plus con Ultrasnap o dispositivos de prueba Supersnap.
- Los menos sensibles y más variables fueron los sistemas Neogen AccuPoint y Charm Science Novalum con sus respectivos dispositivos de prueba.
- El monitoreo de higiene por ATP es una prueba de verificación de limpieza, por lo que la precisión y consistencia a bajos niveles de ATP es crítica. El estudio demostró que Charm y Neogen tienen la sensibilidad más pobre y la mayor variabilidad.
- La punta de recolección de muestras de esponja de Neogen no recolectó la muestra mejor que otros dispositivos de prueba. Neogen fue uno de los peores en desempeño para sensibilidad, repetibilidad y precisión al buscar ATP, residuos de alimentos y detección microbiana.
- El sistema basado en fotodiodo SystemSURE Plus es igual o mejor que el sistema basado en tubos fotomultiplicadores.
- Los datos muestran que cada sistema presenta resultados de URL diferentes para cualquier muestra dada. Esto podría ser confuso para los usuarios que comparan sistemas. Un número de URL más grande no significa una lectura más sensible. Charm mostró el valor de URL más alto para cada tipo de muestra y es uno de los sistemas menos sensibles.

Conclusiones - Continuación

- Todos los sistemas de ATP pueden detectar microorganismos en ausencia de otra materia orgánica, pero a un nivel de detección de 10,000 a 100,000 UFC/mL. En general, esto es mucho más alto de lo que permiten los estándares de limpieza. La detección de microorganismos mostró una gran variación en función de la especie y la cantidad. SuperSnap de Hygiene tuvo la mejor eficiencia de extracción para la recuperación y detección de microbios.
- Las propiedades del ensayo de ATP son adecuadas para la determinación de la limpieza, definiéndose la limpieza como la ausencia de material orgánico (derivado de la vida). Las superficies limpias tienen poco o nada de ATP, mientras que las superficies sucias tienen ATP y quizás células microbianas vivas. El resultado de una prueba de ATP disponible en segundos permite la evaluación inmediata del estado de la zona muestreada y si se requiere una acción de limpieza adicional. El método tradicional para determinar la limpieza es el recuento en placa de aerobios, que requiere dos días para completarse. Este procedimiento está limitado al tipo de microorganismos que puede detectar y no detecta residuos orgánicos.



Para recibir el informe completo de
Evaluación de Varias Unidades de
Detección de ATP, envíenos un correo
electrónico o llámenos.

www.hygiena.com
enquiries@hygiena.com

EE.UU.: 1 805.388.8007
Reino Unido: +44 (0)1923 818821