

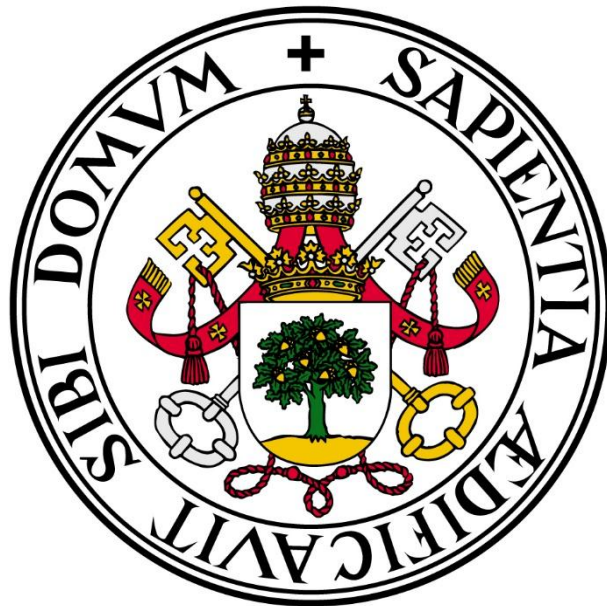
GRADO EN NUTRICIÓN HUMANA Y DIETÉTICA. FACULTAD DE MEDICINA.
UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

El Modelo de Gompertz y su aplicación en Seguridad Alimentaria

Trabajo de Fin de Grado

Javier Cedrón Castro DNI: 71039428H

15/06/2016



Tutor: D. Emiliano José Quinto Fernández

Agradecimientos:

En primero lugar, doy las gracias a mi tutor, Emiliano. No solo por la confianza depositada en mí en la realización de este trabajo, sino también por su apoyo, especialmente durante este último curso. Agradezco, también, que me haya permitido trabajar de forma autónoma, que impulsara y trabajara sobre muchas de mis ideas, de manera que ahora, la gran mayoría, se encuentran aquí incluidas. Trabajar con Emiliano ha resultado agradable, libre de estrés y altamente productivo. Espero, en un futuro, contar con gente con la que pueda trabajar, al menos, igual de bien que con él.

Gracias a toda la comunidad científica (investigadores, universidades, centros, organismos nacionales e internacionales) por poner a nuestra disposición los últimos hallazgos relativos al tema alrededor del cual gira este trabajo, y por la actividad divulgativa de la misma. En este sentido, agradezco al Dr. Tom Ross su colaboración al enviarme alguno de sus trabajos más importantes desde la Universidad de Tasmania.

Por último, tampoco puedo olvidarme de mi familia, que no ha dejado nunca de estar ahí; ni del incesante apoyo de mis amigos, que han hecho de este proceso algo ameno y, en ocasiones, hasta divertido.

Tablas:

Tabla 1. Estimaciones CDC, 2011. Fuente: elaboración propia a partir de los datos del CDC.

Tabla 2. Clasificación de algunos modelos. Fuente: McDonald y Sun, 1999.

Tabla 3. Demostración del cálculo de los factores bias y de precisión (datos de Ross, 1993). Fuente: Ross, 1996.

Tabla 4. Factores que afectan al crecimiento de microorganismos. Fuente: elaboración propia a partir de los datos de la FDA, 2016.

Tabla 5. Comparación del APPCC y la microbiología predictiva. Fuente: Md Fakruddin et al, 2011.

Tabla 6. Aplicaciones de la microbiología predictiva. Fuente: Md Fakruddin et al, 2011.

Tabla 7. Comparación del modelo logístico y el de Gompertz en la predicción de crecimiento de acuerdo con elementos estadísticos de validación. Fuente: Chowdhury et al. 2007.

Figuras:

Figura 1. Factores que están llevando a la modificación de los sistemas de seguridad alimentaria. Fuente: FAO/WHO, 2006.

Figura 2. Brotes de origen alimentario e hídrico en Castilla y León 2000-2009. Fuente: Red de Vigilancia Epidemiológica de Castilla y León. Junta de Castilla y León, Consejería de Sanidad.

Figura 3. Diagrama de flujo de la Evaluación de Riesgos. Fuente: elaboración propia a partir de los datos de AECOSAN y del Codex Alimentarius.

Figura 4. Representación gráfica de una curva de crecimiento bacteriano típica (2015). Nature.Scientific Reports. Article number: 15159.

Figura 5. Benjamin Gompertz. Fuente: Hooker, PF (1965). Benjamin Gompertz, 1779-1865. Journal of the Institute of Actuaries (JIA) 1965, 91:203-212.

Figura 6. Desarrollo de modelos predictivos en microbiología. Fuente: Md. Fakruddin et al, 2011.

Figura 7. Algunos modelos primarios en predicción microbiana. Fuente: McKellar and Lu, 2004. Citado por Md. Fakruddin, 2011.

Figura 8. Gráfica del modelo de Gompertz. Fuente: F. Coll Cárdenas et al, 2001.

Figura 9. Representación típica de confrontación entre los valores de la predicción y los observados. La distancia entre los puntos y la línea son una muestra de la precisión. Fuente: Baranyi et al. 1999.

Figuras 10 y 11. Curvas obtenidas de la evaluación de los modelos. Fuente: Chowdhury et al. 2007.

Figura 12. Fórmulas para las distintas fases que considera el modelo de tres fases. Fuente: Buchanan et al. 1997.

Contenidos

Introducción y justificación	9
Material y métodos	14
Marco legislativo	17
Modelos predictivos: el Modelo de Gompertz	19
La función de Gompertz.....	19
El modelo de Gompertz.....	21
Derivación del modelo de gompertz.....	24
Validación modelos predictivos en microbiología de los alimentos.....	25
Aplicación en seguridad alimentaria	28
Integración en el sistema APPCC.....	29
Otras aplicaciones.....	31
Limitaciones y comparación	32
Comparación del Modelo de Gompertz con otros modelos.....	34
Conclusiones	37
Referencias y bibliografía	38

Resumen

En el presente trabajo se analiza cómo la utilización de modelos y metodologías propias de la Microbiología Predictiva puede resultar beneficiosa en la mejora de la seguridad alimentaria actual.

Si bien es cierto que la inocuidad de los alimentos se ha ido implementando gracias a los avances en tecnología de los alimentos, técnicas de producción y conservación, microbiología, etc., los datos publicados periódicamente por organismos como la WHO, el CDC o los boletines regionales en España nos hacen replantearnos la necesidad de encontrar nuevos métodos que garanticen una adecuada seguridad alimentaria.

En este contexto, la microbiología predictiva (mediante el uso de modelos como el de Gompertz, que se desarrolla y explica en este trabajo) se erige como una novedosa herramienta que, siendo capaz de integrarse dentro del sistema APPCC, supone un innovador campo de prevención y actuación ante el riesgo asociado a determinados peligros de origen microbiológico de los alimentos.

¿Cómo funcionan estos modelos? ¿Cuáles son sus limitaciones? ¿Son de verdad útiles para la seguridad alimentaria? ¿Qué aplicaciones tienen? – Todas estas cuestiones (y alguna más) se verán resueltas a lo largo del trabajo que, finalmente, evidencia la utilidad de los modelos y de esta disciplina dentro de la seguridad alimentaria.

Abstract

This present assay will analyze how using models and Predictive Microbiology methodologies can be beneficial on upgrading current food safety.

Although it's true that food safety has been recently improved thanks to advancements in fields like food technology, storage and production techniques, microbiology, etc., periodically data published by organisms such as the WHO, the CDC or regional bulletins in Spain lead us to reconsider the need of finding new methods that would guarantee a suitable food safety.

In this context, predictive microbiology (by employing models like the Gompertz one, which is explained in this work) comes out as a novel tool that, being able to integrate within the HACCP system, means an innovative prevention and action scope when facing the associated risk of particular food related microbiological hazards.

How do these models work? What are their limitations? Are they actually useful for food safety? What are their applications? – All these questions (and some other) will be resolved along the assay, which will finally evidence these models and this discipline usefulness within general food safety.

Key words

Gompertz model; Predictive microbiology; Food safety; Risk analysis.

Objetivos

Generales

1. Revisar el estado actual de la microbiología predictiva.
2. Analizar la relación de la microbiología predictiva con respecto a la Seguridad Alimentaria.
3. Explicar y desarrollar el Modelo de Gompertz.

Específicos:

4. Estudiar la aplicación de los modelos predictivos (el de Gompertz en particular) en el análisis de riesgos dentro del sistema APPCC.
5. Analizar el diseño, la validación y las limitaciones de los modelos predictivos.

Introducción y justificación

La seguridad alimentaria existe cuando todas las personas tienen, en todo momento, acceso físico, social y económico a alimentos suficientes, inocuos y nutritivos que satisfacen sus necesidades energéticas diarias y preferencias alimentarias para llevar una vida activa y sana (Cumbre Mundial sobre la Alimentación, 1996).

Sin embargo, los cambios que se están produciendo en los mercados alimentarios internacionales y los nuevos métodos en agricultura, entre otros factores (figura 1), están obligando a realizar modificaciones en los sistemas de seguridad alimentaria actuales, que han de adaptarse a las modas y tendencias del mundo actual (FAO/WHO, 2006).



Figura 1. Factores que están llevando a la modificación de los sistemas de seguridad alimentaria. Fuente: FAO/WHO, 2006).

En lo que concierne a este trabajo, nos quedamos con el aspecto de inocuidad planteado en la primera definición.

Los riesgos ocasionados por peligros microbiológicos constituyen un problema grave e inmediato para la salud humana (Codex Alimentarius, 2014). En 2011, se estimó que, a causa de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), 1 de cada 6 americanos (o lo que es lo mismo, unos 46 millones de personas) enfermaron, 128.000 tuvieron que ser hospitalizados y 3.000 murieron (CDC, 2011).

Agente patógeno	Número estimado de enfermos anuales (90% CI)	%	Número estimado de hospitalizaciones anuales (90% CI)	%	Número estimado de muertes anuales (90% CI)	%
Patógenos conocidos	9.4 millones (6.6 – 12.7 millones)	20	55,961 (39,534 – 75,741)	44	1,351 (712 – 2,268)	44
Patógenos no conocidos	38.4 millones (19.8 – 61.2)	80	71,878 (9,924 – 157,340)	56	1,686 (369 – 3,338)	56
Total	47.8 millones (28.7 – 71.1)	100	127,839 (62,529 – 215,562)	100	3,037 (1,492 – 4,983)	100

Tabla 1. Estimaciones CDC. Fuente: elaboración propia a partir de los datos del CDC, 2011.

En cuanto a microorganismos específicos, los que más muertes ocasionaron por ETAs fueron *Toxoplasma gondii*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*, siendo este último el más letal (CDC, 2011).

Del mismo modo, se estima que un total de 22 procesos de tipo gastrointestinal causados por microorganismos presentes en los alimentos resultaron en dos billones de enfermos durante el año 2010 en todo el mundo; el 39% fueron menores de 5 años. De todos ellos, se produjeron 351.000 muertes, relacionadas con la contaminación de los alimentos (WHO, 2015).

Sin necesidad de irnos tan lejos, en nuestra Comunidad Autónoma, Castilla y León, se notificaron un total de 626 brotes de ETAs entre los años 2000 y 2009 (Red de Vigilancia Epidemiológica de Castilla y León, 2010).

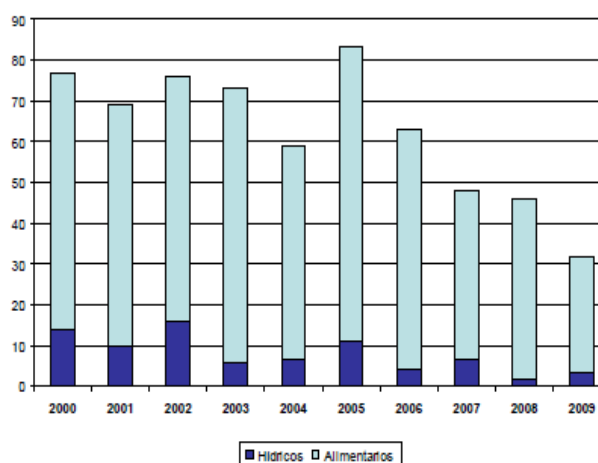


Figura 2. Brotes de origen alimentario e hídrico en Castilla y León 2000-2009.

En este contexto, uno de los objetivos que actualmente se plantea la Seguridad Alimentaria es, precisamente, el de alcanzar un grado de conocimiento que nos

permita anticiparnos al comportamiento de bacterias patógenas y/o alterantes en los alimentos (USDA, 2016).

Para lograrlo, la Seguridad Alimentaria se vale de medios como el análisis de riesgos; un proceso sistemático de recogida y evaluación de la información relevante sobre un determinado peligro, para estimar su probabilidad de aparición y las repercusiones de su ocurrencia, basándose en la mejor evidencia científica disponible (AESAN, 2011). Este proceso supone una potente herramienta para encontrar soluciones consistentes y realistas a los problemas de seguridad alimentaria; por tanto, su correcta utilización puede traer mejoras en materia de Salud Pública y proporcionar unas bases o normas al mercado alimentario internacional (FAO/WHO, 2006)

El análisis de riesgos consta de tres componentes (Codex Alimentarius, 2014): evaluación de riesgos (en la que nos vamos a centrar), gestión del riesgo y comunicación del riesgo.

La evaluación de riesgos es el principal componente científico sobre el que descansa el análisis de riesgos (FAO/WHO, 2006); es un proceso de evaluación y determinación de la probabilidad y severidad de los efectos para salud de los consumidores que pueden producirse como consecuencia de su exposición a peligros de origen alimentario (AECOSAN, 2016), en este caso, ocasionados por la presencia de microorganismos patógenos y/o alterantes de los alimentos. Las fases que componen la evaluación del riesgo son las siguientes (Codex Alimentarius, 2003; AECOSAN, 2016):

- Identificación del peligro: determinación de los agentes (en este caso, biológicos) que pueden causar efectos nocivos para la salud y que pueden estar presentes en los alimentos.
- Caracterización del peligro: evaluación cualitativa y/o cuantitativa de la naturaleza de los efectos perjudiciales para la salud del agente con el que se está trabajando.
- Evaluación de la exposición: valoración cualitativa y/o cuantitativa de la probabilidad de la ingesta del agente a través de los alimentos.
- Caracterización del riesgo: estimación cualitativa y cuantitativa de la incidencia del efecto adverso derivado de la exposición al peligro. Incluye una estimación de la probabilidad y severidad que dicho efecto tendría sobre la salud.



Figura 3. Diagrama de flujo de la Evaluación de Riesgos. Fuente: elaboración propia a partir de los datos de AECOSAN y del Codex Alimentarius.

El nivel de microorganismos que pueden estar presentes en los alimentos está estrechamente vinculado a distintos factores; incluyendo la contaminación previa, la cantidad de nutrientes, la temperatura, el pH, la actividad de agua, la salinidad, la composición atmosférica, la presencia de aditivos y la de sustancias antimicrobianas. Así, observamos que los microorganismos pueden mostrar tres comportamientos (USDA, 2016):

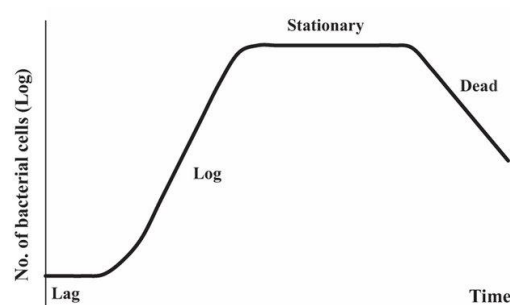
- Crecimiento: aumento en número.
- Inactivación o muerte: disminución en número o erradicación.
- Supervivencia: mantenimiento en número.

El crecimiento microbiano puede segmentarse en tres etapas fundamentales:

1. Fase de latencia: es el tiempo que tarda la bacteria en adaptarse al medio en que se encuentra antes de empezar a multiplicarse.
2. Fase de crecimiento o exponencial: en ella, la bacteria o el microorganismo se multiplica hasta un determinado límite.
3. Fase estacionaria: es la fase en la que la bacteria ha alcanzado el nivel máximo al que podría llegar en el medio en que está.

Por último, cabría esperar la inactivación o eliminación de la bacteria (USDA, 2016).

Figura 4. Representación gráfica de una curva de crecimiento bacteriano típica. Fuente: Nature Scientific Reports (2015).



La microbiología predictiva es, por tanto, la rama de la Microbiología de los Alimentos que estudia las relaciones entre los factores citados y el comportamiento de los microorganismos frente a los mismos, teniendo como objetivo cuantificar dichas relaciones y elaborar ecuaciones matemáticas que nos permitan predecir comportamientos futuros (FAO, 2016).

Una de las premisas sobre las que descansa el fundamento teórico de la microbiología predictiva es que la respuesta de distintas poblaciones de microorganismos ante diversos factores ambientales es reproducible y que, de esta forma, se puede predecir el comportamiento de dichos microorganismos a través de la observación previa y la recopilación de datos (Ross y McMeekin, 1994).

Estos datos, obtenidos a través de las distintas respuestas del agente que se estudia frente a distintas condiciones de temperatura, pH, etc., serán la base del fundamento matemático del modelo predictivo correspondiente (Ross y McMeekin, 1995).

La microbiología predictiva se vale de los datos obtenidos en curvas de crecimiento microbianas y su “transformación” a ecuaciones matemáticas para construir modelos que puedan predecir, de una manera fiable y eficiente, la respuesta de los microorganismos bajo determinadas condiciones. Esta disciplina se encuentra estrechamente ligada a otras como la Microbiología Experimental, la Higiene y Seguridad de los Alimentos, la Nutrición, la Tecnología de los Alimentos, la Bromatología, la Epidemiología y la Estadística (WHO, 2015).

La gran incidencia de ETAs que anualmente se registran mundialmente y la necesidad de aplicar los principios del análisis y la evaluación de riesgos (en la cual se enmarca el empleo de modelos de predicción microbiana) para implementar la seguridad alimentaria, justifican la realización del presente Trabajo de Fin de Grado. Del mismo modo, el auge cada vez mayor en el empleo de los modelos predictivos y la utilidad de los mismos enmarcan a este trabajo dentro de la seguridad alimentaria moderna y le otorgan una dimensión cronológica actual.

Material y métodos

Partiendo de la base de que este trabajo es una revisión bibliográfica, este apartado se centra en la forma y los canales a través de los cuales se han obtenido la información necesaria para llevarlo a cabo.

Por un lado, aparecerán detallados los portales de búsqueda empleados para la recopilación de artículos científicos y, por otro, los procesos mediante los cuales se ha accedido a otro tipo de documentos o información.

Artículos científicos

Portales de búsqueda:

- Google Scholar
- Scopus
- PubMed

En todos los casos, las palabras de búsqueda han sido las siguientes, combinadas de una u otra forma:

- Predictive microbiology
- Predictive model / Predictive model application
- Model / modeling
- Food borne disease / illness
- Food Safety
- Risk analysis
- Risk assessment
- Gompertz
- Gompertz model / function
- Quantitative microbiology
- HACCP

En muchos casos también se han utilizado filtros más específicos como el año de publicación, el número de citas, la revista en que se ha publicado el documento, etc.

En otras ocasiones y, conociendo previamente su *background* y los temas en los que centra sus publicaciones, se ha filtrado por autor. Dentro del campo de la microbiología predictiva, encontramos numerosos autores que han enfocado sus estudios en esta

disciplina cuyos nombres abreviados son, por ejemplo, *Ross T*, *McMeekin TA*, *Buchanan RL* o *Whiting RC*.

Para la obtención de determinados artículos de acceso muy limitado o de pago, se ha realizado el registro en varios portales de búsqueda como *Research Gate* o *Science Direct*. También se ha contactado con algún autor concreto para la solicitud de artículos concretos, como el Dr. Tom Ross, de la Universidad de Tasmania.

La búsqueda dentro de determinados portales de revistas concretas como el *International Journal of Food Microbiology* también ha sido de gran ayuda en la localización de artículos muy específicos.

Otros documentos

Aquí, va incluida la información recabada en páginas web de distintas instituciones, los documentos que en ellas hay, organismos territoriales, nacionales e internacionales, etc.

Instituciones de ámbito territorial y nacional:

- España
 - Junta de Castilla y León (<https://www.jcyl.es/>)
 - Consejería de Sanidad (<http://www.saludcastillayleon.es/es>)
 - Red de Vigilancia Epidemiológica de Castilla y León (<http://www.saludcastillayleon.es/profesionales/es/informacion-epidemiologica/red-vigilancia-epidemiologica-castilla-leon>)
 - Boletín Epidemiológico de Castilla y León (<http://www.saludcastillayleon.es/profesionales/es/inf-epidemiologicos/boletin-epidemiologico-castilla-leon>)
 - AESAN, actualmente AECOSAN: Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/home/aecosan_inicio.shtml)
- Estados Unidos
 - USDA: United States Department of Agriculture (<http://www.usda.gov/wps/portal/usda/usdahome>)
 - CDC: Center for Disease Control and Prevention, United States (<http://www.cdc.gov/>)
 - FDA: Food and Drug Administration, United States (<http://www.fda.gov/>)

Instituciones de ámbito internacional:

- Unión Europea
 - EFSA: European Food Safety Authority (<https://www.efsa.europa.eu/>)
- Organismos mundiales
 - WHO: World Health Organization (<http://www.who.int/en/>)
 - FAO: Food and Agriculture Organization, United Nations (<http://www.fao.org/>)
 - Codex Alimentarius (<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-home/es/>)

Como se puede ver, han sido seleccionados organismos que representan fuentes de información fiable y verídica. Por ello, se han tenido muy cuenta los documentos públicos de FAO/WHO, por ejemplo, para la descripción de la evaluación de riesgos y otros procesos; o las estadísticas publicadas en el CDC para ver la incidencia de determinados procesos patológicos asociados a la contaminación microbiológica de los alimentos.

Han resultado especialmente útiles en la recopilación de datos epidemiológicos y en la definición de conceptos que, de una manera u otra, rodean al presente trabajo.

Del mismo modo, se han utilizado las mismas palabras clave para la búsqueda de artículos científicos, dentro de los propios portales de organismos como el CDC, FAO, AECOSAN, etc., con el fin de acceder a definiciones, materiales e información válidos desde un punto de vista crítico y científico.

Marco legislativo

Al ser la microbiología predictiva una disciplina relativamente joven, no dispone aún de normas y referencias propias que la habiliten para el desempeño de sus funciones con una garantía legal e higiénico-sanitaria.

Actualmente, contamos con un reglamento que, de forma más o menos directa, regulan los procesos propios de esta ciencia y que supone la única legislación vigente al respecto:

REGLAMENTO (CE) nº 2073/2005 de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.



European Commission

⇒ **Artículo 3. Condiciones generales.**

2. Cuando sea necesario, los explotadores de las empresas alimentarias responsables de la fabricación del producto realizarán estudios conforme a lo dispuesto en el anexo II para investigar el cumplimiento de los criterios a lo largo de toda la vida útil. Esto es aplicable especialmente a los alimentos listos para el consumo que puedan permitir el desarrollo de *Listeria monocytogenes* y puedan suponer un riesgo para la salud pública en relación con dicha bacteria.

⇒ **Artículo 5. Normas específicas para las pruebas y la tomade muestras.**

5. (...) Se autorizará el uso de métodos analíticos alternativos cuando los métodos estén validados y si se utiliza un método registrado, certificado por terceros conforme al protocolo de la norma EN/ISO 16140 u otros protocolos similares internacionalmente aceptados.

⇒ ANEXO II

Los estudios a los que refiere el artículo 3, apartado 2, consistirán en lo siguiente:

- Especificaciones de las características fisicoquímicas del producto, teniendo en cuenta las condiciones de almacenamiento y transformación, las posibilidades de contaminación y la vida útil prevista.
- Consulta de la bibliografía científica y de los datos de investigación disponibles acerca de los aspectos que caracterizan el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos en cuestión.

Cuando sea necesario, el explotador de la empresa alimentaria realizará estudios complementarios, entre los que pueden incluirse los siguientes:

- Elaboración de modelos matemáticos de pronóstico establecidos para el alimento de que se trate.
- Pruebas para investigar la capacidad que tiene el microorganismo en cuestión, para crecer o sobrevivir en el producto.
- Estudios para evaluar el crecimiento o supervivencia de los microorganismos en cuestión que puedan estar presentes en el producto durante su vida útil.

Los estudios anteriormente citados tendrán en cuenta la variabilidad inherente al producto, los microorganismos en cuestión y las condiciones de transformación y almacenamiento.

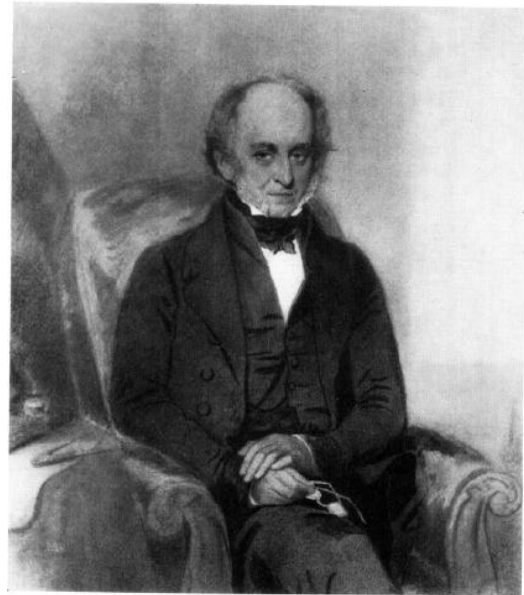
De este reglamento extraemos, fundamentalmente, la idea de que la microbiología predictiva y sus métodos están aceptados en tanto que estén validados y autorizados por las autoridades correspondientes; sin embargo, son muchos los vacíos que dejan los pocos puntos del reglamento que se pueden relacionar con el tema de este trabajo. Por tanto, resultaría interesante trabajar hacia la elaboración de normas más precisas en cuanto a los modelos, las fases del análisis de riesgos o del APPCC en que pueden utilizarse, los procesos de validación concretos, etc.

Modelos predictivos: el Modelo de Gompertz

Benjamin Gompertz, miembro de una distinguida familia judía de orígenes germanos y holandeses, nació el 5 de marzo de 1779 en Londres, donde también murió el 14 de julio de 1865. No tuvo acceso a la enseñanza universitaria debido a sus creencias religiosas, por lo que estudió de forma autónoma. Centrando su atención en las matemáticas, consiguió unirse como miembro a la Society of Mathematicians of Spitalfields, lo que le facilitó la posibilidad de seguir formándose (Encyclopedia, 2016).

Desde la adolescencia, Gompertz ya estaba familiarizado con los tratados de los matemáticos ingleses y franceses del siglo XVIII como Newton, Maclaurin o Emerson.

Dicen de él que su sed de conocimiento era tan grande que, de niño, sus padres tenían que apagar y hasta esconder los candelabros y las velas de casa para evitar que se quedara toda la noche estudiando; él, por su parte, seguía con sus investigaciones en el jardín, a la luz de la luna (Hooker, 1965).



BENJAMIN GOMPERTZ, 1779-1865

Figura 5. Benjamin Gompertz. Fuente: JIA, 1965.

A lo largo de su vida, formó parte de numerosas sociedades de prestigio como la Royal Astronomical Society, la London Mathematical Society, la Society of Actuaries y la Royal Statistical Society, entre otras (Encyclopedia, 2016), a las cuales dedicó gran parte de su talento y sabiduría.

Función de Gompertz

Durante los años 20 del siglo XIX, se establecieron en Reino Unido las compañías de seguros Guardian Insurance Office (1821) y Alliance Assurance Company (1824), esta última dirigida por el propio Gompertz durante varios años (O'Connor y Robertson, 2005).

Aplicando procedimientos del cálculo diferencial a cuestiones actuarias, consiguió presentar su "ley" o *paper* sobre la mortalidad ante la Royal Society (O'Connor y

Robertson, 2005). El trabajo, titulado “*On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies*” explicaba su ley de la siguiente manera: “Es posible que la muerte sea la consecuencia, fundamentalmente, de dos causas que coexisten; la primera es un componente independiente de la edad (factores externos) y la segunda uno dependiente (el deterioro propio del envejecimiento), el cual crece exponencialmente a medida que la edad avanza (Hooker, 1965). El documento fue publicado en 1825 por *Philosophical Transactions*, de la Royal Society (Kirkwood, 2015).

Esta “ley”, conocida como la Ley de Mortalidad de Gompertz, nos muestra cómo los ratios de mortalidad (obtenidos a través de tablas de mortalidad o supervivencia) aumentan en una progresión lineal (O’Connor y Robertson, 2005). Así, y con fines actuariales, Gompertz pensó en reducir toda esa masa de datos de las tablas a un formato más simple conocido, desde entonces, como la ecuación de Gompertz (Kirkwood, 2015).

(1)

$$u(x) = \alpha \times e^{\beta x}$$

μ = mortalidad a la edad x .

α y β = constantes.

Esta función (1), modificada posteriormente (2) por William Makeham (teniendo más en cuenta los dos componentes), fue utilizada por las aseguradoras del momento para calcular cuotas, indemnizaciones, etc. (Kirkwood, 2015).

(2)

$$u(x) = \alpha \times e^{\beta x} + \gamma$$

μ = mortalidad a la edad x .

α y β = constantes.

γ = constante que representa la mortalidad independiente a la edad.

Cuando los ratios de mortalidad con los que se trabaja se llevan a una escala logarítmica, se obtiene una línea recta conocida como función de Gompertz. La pendiente de dicha función indica el ratio actuarial de envejecimiento (o ratio de envejecimiento). Las diferencias en la pendiente γ , por tanto, en el ratio de

envejecimiento, pueden explicar las diferencias en la longevidad de distintas especies (O'Connor y Robertson, 2005).

En lo que concierne a este trabajo, no se profundizará mucho más en el aspecto matemático de la función, sino en su derivación como ecuación de predicción en microbiología, lo que será nombrado de aquí en adelante como "Modelo de Gompertz".

El Modelo de Gompertz

Antes de desglosar el modelo, ver qué parámetros tiene en cuenta, etc., vamos a definirlo como un modelo cinético (Roberts, 1989; Fakruddin, 2011) y primario (Whiting and Buchanan, 1993; Fakruddin, 2011).

- Cinético

Este tipo de modelos se basan en la respuesta del agente de estudio, crecimiento o supervivencia bajo determinadas condiciones (McMeekin et al, 1993).

- Primario

Un modelo primario describe, fundamentalmente, el número de microorganismos en función del tiempo. Se cuantifican en unidades formadoras de colonias (UFC) / ml, formación de toxinas, de metabolitos o en función de la absorbancia, por ejemplo (Coll-Cárdenas y cols, 2001).

A partir de los resultados derivados del empleo de modelos primarios, como es este, se desarrollan los secundarios y terciarios, en cuyas definiciones no vamos a entrar.

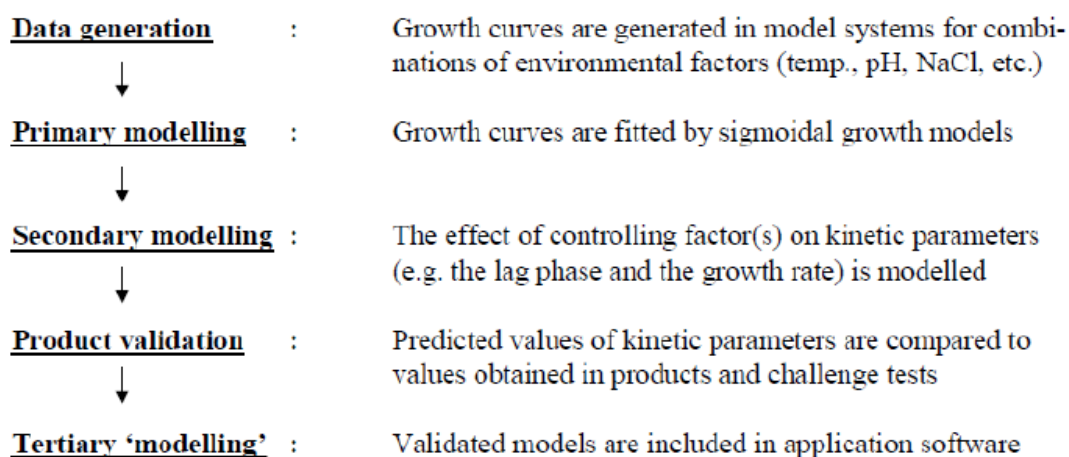


Figura 6. Desarrollo de modelos predictivos en microbiología. Fuente: Fakruddin et al. (2011).

Primary models	Secondary models	Tertiary models
Gompertz function ¹	Belehradek model (square-root model) ¹⁰	USDA Pathogen ¹⁸ Modelling Program
Modified Gompertz ²	Ratkowsky model (square-root model) ¹¹	Food MicroModel ¹⁹
Logistic model ³	Arrhenius model ¹²	Pseudomonas Predictor ²⁰
Baranyi model ⁴	Modified Arrhenius models (Davey or Schoolfield) ¹³	Expert Systems ²¹
First-order monod model ⁵	Probability models ¹⁴	
Modified monod model ⁶		
D values of thermal inactivation ⁷	Z values ¹⁵	
Growth decline model of Whiting and Cygnarowicz ⁸	Polynomial or response ¹⁶	
Three-phase linear model ⁹	Surface models	
	Williams-Landel Ferry model ¹⁷	

Tabla 2. Clasificación de algunos modelos. Fuente: McDonald y Sun, 1999.

Volviendo a los modelos primarios, actualmente son bastantes los que están validados y pueden emplearse, como por ejemplo:

Exponential model $Log(N_t) = Log[N_0 \times \exp(\mu_{max} \times time)]$

Logistic model without lag $Log(N_t) = Log\left(\frac{N_{max}}{1 + \left[\frac{N_{max}}{N_0} - 1\right] \times \exp(-\mu_{max} \times time)}\right)$

Logistic model with lag $Log(N_t) = Log\left(N_{min} + \frac{N_{max} - N_{min}}{1 + \exp(-\mu_{max}(time - t_l))}\right)$

Baranyi & Roberts (1994)

$$Log(N_t) = Log(N_0) + \frac{1}{\mu_{max}} \times \left[time + \frac{1}{\mu_{max}} \times Ln\left(\frac{\exp(-\mu_{max} \times time) + q_0}{1 + q_0}\right) \right] - \frac{1}{Log(10)} \times Ln\left(1 + \frac{\exp\left(\mu_{max} \times \left[time + \frac{1}{\mu_{max}} \times Ln\left(\frac{\exp(-\mu_{max} \times time) + q_0}{1 + q_0}\right) \right]\right) - 1}{\exp(Log(N_{max}) - Log(N_0))}\right)$$

Modified Gompertz model $Log(N_t) = Log(N_0) + (A \times \exp\left(-\exp\left[\frac{\mu_{max} \times \exp(1)}{A} \times (lag - time) + 1\right]\right)) / Ln(10)$

Figura 7. Algunos modelos primarios en predicción microbiana. Fuente: Fakruddin, 2011).

A la hora de emplear un modelo, en este caso primario, hay que seguir una serie de etapas (García, 2003):

1. Diseño
 - a. Definir el objetivo experimental.
 - b. Enumerar todas las variables y su relevancia.
 - c. Rango de fluctuación de las variables.
 - d. Selección del medio (sustrato).

- e. Características del microorganismo.
- f. Competencia con otros microorganismos.

(Estrategia para diseño experimental, Davies, 1993).

2. Acumulación de datos

Se obtienen a través de la propia experimentación; es decir, estimando de manera directa o indirecta (García, 2003) los valores del parámetro que estemos estudiando (recuento en placas, turbidimetría, citometría de flujo, etc.).

Todos estos valores serán los que, mediante métodos estadísticos, conformaran la curva de crecimiento / inactivación.

3. Ajuste de la curva

Una vez obtenidos los datos, se modela la curva de crecimiento del microorganismo que se está estudiando (García, 2003), pudiéndose derivar, así, los parámetros que se han tenido en cuenta y que han afectado a la curva obtenida (Whiting, 1993).

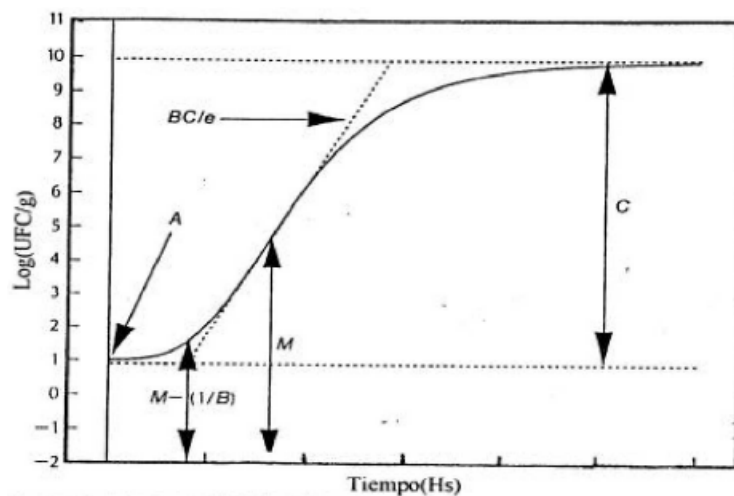


Figura 8. Gráfica del modelo de Gompertz. Fuente: Coll-Cárdenas et al. 2001).

4. Obtención del modelo

Cuando ya se tiene la gráfica, se pueden manipular los datos y valores obtenidos para elaborar un modelo secundario o terciario (CNTA, 2013). En este caso y, al ser el modelo que se está tratando uno primario, no se desarrollará el proceso de “transformación” a modelos superiores.

5. Validación

Para validar un modelo (generalmente aplicado a un microorganismo concreto), se suelen analizar distintos estadísticos y/o parámetros. Entre los más utilizados, destacan los siguientes:

- Coeficiente de determinación (R^2)
- Control de valores residuales
- Significación estadística y significación biológica
- Varianza

(Vandepitte et al. 1995).

⇒ Se tratará la importancia y los métodos de validación de los modelos en otro apartado, de manera más detallada.

6. Empleo, predicción

Derivación del Modelo de Gompertz

La derivación para microbiología de alimentos de la ecuación modificada de Gompertz (2) se puede sintetizar en la siguiente expresión:

(3)

$$\text{Log } N = A + C \exp\{-\exp[-B(t - M)]\}$$

Log N = logaritmo decimal de los recuentos microbianos [log [UCF/ml]] al tiempo t.

A = logaritmo de los recuentos cuando el tiempo decrece indefinidamente; equivale, aproximadamente, al logaritmo decimal del nivel inicial de bacterias.

C = logaritmo de los recuentos cuando el tiempo se incrementa indefinidamente.

M = tiempo requerido para alcanzar la máxima velocidad de crecimiento [hs].

B = velocidad de crecimiento relativa al tiempo M [hs]⁻¹.

De estos parámetros se deriva:

- Velocidad específica de crecimiento (μ). $u = B \times C/e$ (4)

- Duración de la fase de latencia (LPD). $LPD = (M - 1)/B$ (5)

- Máxima densidad de población (MPD). $MPD = A + C$ (6)

Validación de modelos predictivos en microbiología de los alimentos

En la actualidad, no hay un criterio publicado y aceptado internacionalmente que pueda establecer cuándo un modelo es válido (es decir, cuya aplicación es precisa y cuyos resultados pueden inferirse al mundo real) y cuando no (Buchanan et al. 1997; Giffel et al. 1999).

Tradicionalmente, se han venido utilizando estadísticos como el coeficiente de determinación o la MSE (*mean square error*) para hacerse una idea de la validez del modelo evaluado (Ross, 1996; McClure et al. 1994). A continuación, haremos un breve repaso de estos elementos y otros empleados en la validación:

- **MSE**

Se trata de una medida de la variabilidad que no se debe a cambios en los factores (Giffel et al. 1999), fundamentalmente aquellos que son extrínsecos, sino que se debe a la variabilidad inherente a la biología o a errores sistemáticos. Así, cuanto menor sea el valor de la MSE, mayor es la adecuación del modelo y sus resultados (Adair et al. 1989 y Sutherland et al. 1994; Giffel et al. 1999).

Se calcula sumando los cuadrados de los errores y dividiendo entre el número de grados de libertad; es decir, nos informa sobre la diferencia entre lo que se ha estimado y lo observado (Buchanan et al. 1997).

- **Coeficiente de determinación (R^2)**

Esta medida nos indica el ajuste de los datos obtenidos a un modelo lineal; es decir, nos informa sobre qué cantidad de la variabilidad observada se debe al ajuste lineal de los datos en el modelo (Giffel et al. 1999). De este modo, cuanto mayor sea el valor de este estadístico (que se mueve entre 0 y 1), mejor será la predicción del modelo (Grau and Vanderlinde 1993, Duffy et al. 1994; Sutherland et al. 1994; Giffel et al. 1999).

- ***Accuracy factor* o factor de precisión y *Bias factor*:**

Estos dos factores, descritos y desarrollados inicialmente por Ross (1996), son, en cierta medida, valores promedio definidos a partir de distintas concepciones del 'promedio' (Baranyi et al. 1999).

- El **factor de precisión** es la media de las distancias mínimas que hay entre cada punto y la línea obtenida a través de la regresión lineal aplicada en el

modelo; es, por tanto, una medida de desviación que, hablando en plata, nos dice lo cerca que la predicción está de lo observado (Ross, 1996).

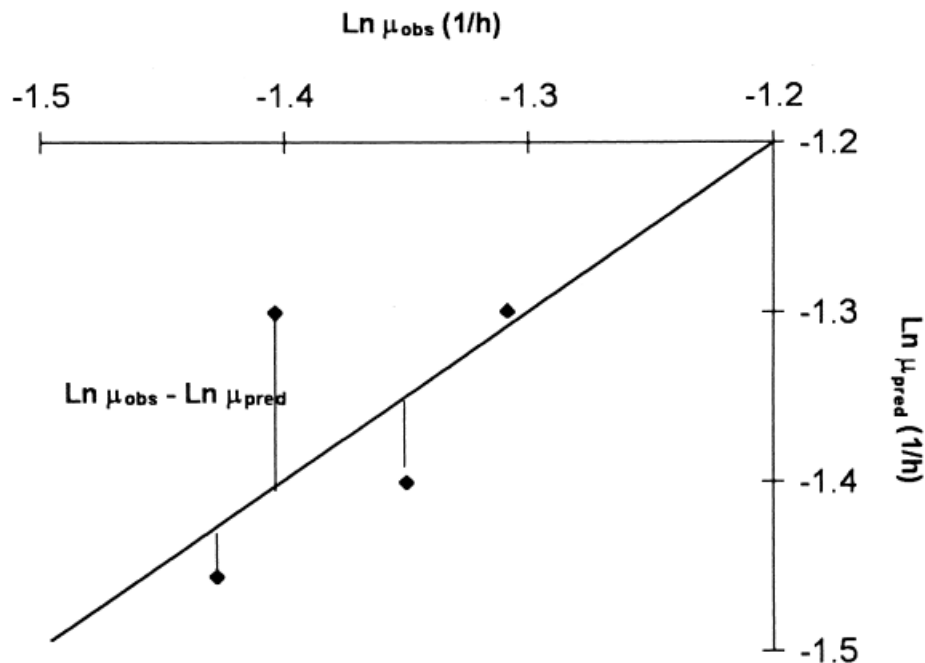


Figura 9. Representación típica de confrontación entre los valores de la predicción y los observados. La distancia entre los puntos y la línea son una muestra de la precisión. Fuente: Baranyi et al. 1999.

- El **bias factor** nos muestra si, en promedio, los valores observados están por debajo o por encima, gráficamente, de la línea obtenida. Dicho de otra manera, nos da una idea de la desviación estructural del modelo (Giffel et al. 1999).

Este factor tiene una relevancia especialmente importante por los resultados que se obtienen de su utilización, pues nos indica si el resultado de un determinado parámetro está sobreestimado o subestimado respecto a lo que se observa (Giffel et al. 1999).

Así, un *bias factor* menor de 1 significa que estamos ante lo que se suele llamar “*fail-safe model*” (Ross, 1996); es decir, un modelo que, a pesar de no ser muy preciso en la predicción, no comporta ningún riesgo (Ross, 1996; Giffel et al. 1999).

- ❖ Por ejemplo, si los tiempos observados en los cuales crecen unos determinados microorganismos fueran mayores que los de las predicciones (*bias factor* < 1), pese a que no sean del todo precisas, aportan un margen de seguridad (Baranyi et al. 1999; Giffel et al. 1999).

Del mismo modo, hablaremos de “*fail-dangerous model*” (Ross, 1996) cuando el factor sea mayor que 1 y conlleve un riesgo para la salud.

Tanto el cálculo del factor de precisión (7) como el *bias* (8) se pueden consultar a través del ejemplo práctico de la tabla 3.

Food type	Variables		Observed GT (h)	Predicted GT (h)	predicted/observed	log (pred/obs)	absolute value
	Temperature (°C)	Water activity					
Smoked salmon	12.5	0.965	11.5	17.4	1.52	0.18	0.18
Smoked salmon	17.5	0.965	4.05	3.89	0.96	-0.02	0.02
Smoked salmon	22.5	0.975	1.65	1.52	0.92	-0.04	0.04
Smoked salmon	25.0	0.955	1.90	1.34	0.71	-0.15	0.15
Smoked salmon	27.5	0.975	0.73	0.84	1.15	0.06	0.06
Smoked salmon	32.5	0.965	0.57	0.58	1.02	0.01	0.01
Smoked salmon	35.0	0.955	0.50	0.53	1.06	0.03	0.03
	Mean					0.01	0.07
	⇒ bias factor (= antilog ₁₀ 0.01)						1.02
	⇒ accuracy factor (= antilog ₁₀ 0.07)						1.17

GT, Generation time.

Tabla 3. Demostración del cálculo de los factores *bias* y de precisión (datos de Ross, 1993). Fuente: Ross, 1996.

(7)

$$Accuracy\ factor = 10^{(\sum \log(\frac{GT\ predicted}{GT\ observed})/n)}$$

(8)

$$Bias\ factor = 10^{(\sum \log(\frac{GT\ predicted}{GT\ observed})/n)}$$

Donde: GT = tiempo de crecimiento; n = número de observaciones utilizadas en el cálculo.

Ambos factores cobran un especial interés en tanto que nos permiten hacer comparaciones entre distintos modelos (Ross, 1996). El uso de los dos supone un paso adelante hacia el establecimiento de un criterio de validación de modelos objetivo y práctico.

Todos estos elementos resultan interesantes para validar un modelo (Fakruddin et al. 2011) aunque, recordemos, no haya ningún criterio aceptado y reconocido por la comunidad científica para este asunto (Buchanan et al. 1997; Giffel et al. 1999).

Aplicación en Seguridad Alimentaria

Como se ha comentado en apartados anteriores, existen diversos factores que afectan al crecimiento microbiano en los alimentos (McDonald y Sun, 1999), intrínsecos y extrínsecos, que comprometen, en mayor o menor medida, la estabilidad de los alimentos y, consecuentemente, la seguridad alimentaria.

Intrínsecos	Extrínsecos
Actividad y contenido de agua	Temperatura
pH	Humedad relativa
Contenido en nutrientes	Composición atmosférica
Presencia/ausencia de sustancias antimicrobianas	Condiciones de producción y envasado
Potencial <i>redox</i>	Conservación
Estructura biológica	Distribución
Competencia microbiana	Interacción entre factores

Tabla 4. Factores que afectan al crecimiento de microorganismos. Fuente: elaboración propia a partir de los datos de la FDA, 2016.

En este contexto, el análisis de riesgos se presenta como una herramienta básica en la prevención de los riesgos asociados a los peligros microbiológicos de los alimentos (AESAN, 2011). Las etapas de esta herramienta se pueden ver en la introducción del trabajo, de forma sintetizada.

Pero, ¿dónde encaja la microbiología predictiva en todo este sistema? – En la evaluación de riesgos, fundamentalmente. En ella, el empleo de modelos predictivos puede ser un instrumento muy útil (Codex Alimentarius, 2014).

Se ha definido la evaluación de riesgos, anteriormente, como un proceso de determinación de la probabilidad y gravedad de los efectos nocivos que podrían derivarse de un peligro de origen alimentario (AECOSAN, 2016) y como el pilar científico fundamental del análisis de riesgos en su conjunto (FAO/WHO, 2006). También se han comentado las fases que lo integran (Figura 3).

Así, la utilización de los modelos como el de Gompertz, dentro de la evaluación, resulta interesante en cuanto que nos pueden aportar información fiable sobre la estabilidad de un determinado microorganismo en un alimento concreto y bajo unas condiciones determinadas (Signorini, 2008), incluyendo aquellas relativas a cualquier

fase de la cadena alimentaria como la producción o la distribución (García, 2003), “de la granja a la mesa” (Signorini, 2008).

Por tanto y, por las características propias del modelo, se pueden estimar las variaciones en el número de microorganismos y realizar una evaluación de la exposición a los mismos (Fakruddin et al, 2011).

De este modo, la utilización de la microbiología predictiva, con una concepción más amplia, puede ayudar de forma importante en la realización de una buena evaluación de riesgos en alimentos (Coll-Cárdenas y cols, 2001).

Integración en el sistema APPCC

La microbiología predictiva está relacionada con el Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos por su propio carácter preventivo y de evaluación (García, 2003). De hecho, puede ser de gran utilidad en la formulación de planes de APPCC, interviniendo en distintos puntos del mismo (McMeekin y Ross, 2002).

HACCP	Predictive Microbiology
Identify potential hazards and assess their severity at different stages of processing or operations.	Identify the microorganism(s) of concern
Identify the Critical Control Points (CCP) where control measures need to be implemented.	Develop an understanding of the ecology of microorganism to better identify the source and the likelihood of contamination.
Specification of control criteria and methods to ensure a control has been achieved (when necessary).	Compare information with preset control specifications (<i>i.e.</i> , accept/reject criteria)
Establish and implement monitoring procedures, and response measures to noncompliance situations.	Incorporate the available information into monitoring systems that indicate microbial proliferation

Tabla 5. Comparación del APPCC y la microbiología predictiva. Fuente: Fakruddin et al, 2011).

De acuerdo con los datos que se obtienen de la aplicación del modelo predictivo, este puede ser de gran ayuda en diversos puntos o etapas del APPCC (Yarce, 2013; McMeekin y Ross, 2002) como pueden ser:

- Evaluación del riesgo (en sus múltiples fases).
- Determinación de puntos de control críticos (PCC).
- Reevaluación de límites críticos.
- Especificación de medidas correctoras

Así, el empleo de estas herramientas (los modelos matemáticos) nos puede ser de gran ayuda en cuanto a la toma de decisiones respecto a la valoración del riesgo asociado a cada peligro y respecto a la determinación de los PCC (Brugalla, 2007; Fakruddin, 2011).

De hecho, el potencial de la predicción microbiana en cuanto a la toma de decisiones está siendo objeto de estudio en todo el mundo desde hace años (Vose, 1998 y McNab, 1998; Fakruddin et al, 2011). Esta disciplina nos permite conocer y predecir la durabilidad y seguridad de muchos alimentos (Coll-Cárdenas y cols, 2001).

Incorporando los modelos predictivos en el sistema APPCC vamos a encontrarnos con múltiples ventajas o beneficios en la industria (ahorro potencial en recursos), en la sanidad (mantenimiento de la inocuidad de los alimentos) y en la administración (establecimiento de nuevos límites microbiológicos), entre otras (Roberts, 1989; Coll-Cárdenas, 2001; Brugalla, 2007).

Es decir, la microbiología predictiva se presenta, actualmente, como una herramienta que presta un apoyo operacional al análisis de riesgos y al APPCC (Membré et al, 2008; Yarce, 2013; Cassin et al. 1998; Baranyi et al. 1999); este último, al estar basado en un sistema de evaluación cuantitativo, necesita de datos científicos, información cada día más disponible a través de, entre otros, los modelos de predicción microbiana como el de Gompertz (McMeekin y Ross, 2002).

Uno aspecto limitante en el empleo de los modelos integrados en el APPCC es el posible desconocimiento de las propiedades físicas, químicas o microbiológicas de los alimentos (Brugalla, 2007); con todo y con eso, cada modelo desarrollado tiene la capacidad potencial de aportar información objetiva que permita realizar un análisis de riesgos completo, no limitado a valoraciones cualitativas basadas en juicios individuales o en la experiencia personal de los encargados del proceso (Yarce CJ, 2013).

Además y, como señala la Comisión Europea, El análisis de riesgos debe ser el pilar sobre el que descansa la legislación alimentaria (Reglamento CE 2073/2005); por tanto, la utilización de los modelos como herramientas para implementar el análisis y el sistema APPCC pueden revertir, no solo en mejoras industriales y sanitarias, sino también en una mejora de la legislación alimentaria actual.

Otras aplicaciones

Area of Application	Example
Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP)	Preliminary hazard analysis Identification and establishment of critical control point(s) Corrective actions Assessment of importance of interaction between variables
Risk assessment	Estimation of changes in microbial numbers in a production chain
Microbial Shelf life studies	Assessment of exposure to a particular pathogen Prediction of the growth of specific food spoilers Prediction of growth of specific food pathogens
Product research and development	Effect of altering product composition on food safety and spoilage Effect of processing on food safety and spoilage Evaluation of effect of out-of-specification circumstances
Temperature function integration and hygiene regulatory activity	Consequence of temperature in the cold chain for safety and spoilage
Education	Education on safety, especially non-technical people
Design of experiments	Number of samples to be prepared Defining the interval between sampling

Tabla 6. Aplicaciones de la microbiología predictiva. Fuente: Fakruddin et al, 2011.

Como se puede apreciar en la figura, no son pocas las aplicaciones que se le pueden dar a la microbiología predictiva y a los modelos matemáticos. Además del análisis de riesgos y la implementación del APPCC, destaca la utilidad en el diseño de nuevos productos, en la innovación (Signorini, 2008) dentro de la industria alimentaria, evaluando la proliferación microbiana o los ratios de inactivación asociados a fórmulas alimenticias particulares o condiciones del procesamiento concretas (Membré et al, 2008).

Resulta interesante, asimismo, el hecho de introducir modelos de predicción y en general la metodología de esta disciplina en programas de educación y formación en seguridad alimentaria; mostrando a personas no técnicas o especializadas cómo sería el comportamiento microbiano según los factores presentes en el medio (García, 2003).

Limitaciones y comparación

Los modelos matemáticos más utilizados son el de Gompertz (Gibson et al. 1988, Buchanan and Phillips 1990; Garthright 1991; Buchanan et al. 1997) y el de Baranyi (Baranyi and Roberts 1994; Baranyi et al. 1995; Buchanan et al. 1997), cuyas fórmulas y expresiones se pueden ver en apartados previos del trabajo.

A continuación, se comentarán algunas de las limitaciones más comunes de dichos modelos. Entre ellas:

⇒ **Ausencia de un criterio de validez aceptado globalmente:**

Aunque existen distintas metodologías o parámetros de validación, tanto interna como externa, como son el cálculo del coeficiente de determinación y de la varianza, el análisis de valores residuales, etc. (Vandepitte et al. 1995 y García 2003), no contamos en la actualidad con un criterio establecido y aceptado por el conjunto de las instituciones cuyas actividades van en la línea de la microbiología predictiva (Buchanan et al. 1997; Giffel et al. 1999).

Este hecho, pese a que las predicciones de estos modelos suelen ser precisas, supone un inconveniente en cuanto a la homogeneización de los modelos y al diseño de los mismos (McClure et al. 1994), dejando florecer diferencias entre ellos y haciendo que la evaluación de unos y otros, así como sus comparaciones, necesite de una metodología compleja.

Sin embargo y, pese a que no suponen una norma ni una referencia globalmente aceptada, se emplean habitualmente índices como el del factor de precisión (*accuracy factor*) o el factor *bias* (Ross, 1996).

⇒ **“Error de inconclusión” (“Completeness error”)**

La gran mayoría de los modelos se centran en factores como la temperatura, el pH, la actividad de agua, la cantidad de nitritos y la de ácidos orgánicos como principales determinantes en el control del crecimiento bacteriano; en algunos casos, no tienen en cuenta el efecto de otras poblaciones microbianas, la estructura física de los alimentos en relación al crecimiento. Este fenómeno es el que se ha venido denominando en los últimos años como “*Completeness error*” o “Error de inconclusión” (McMeekin y Ross, 2002).

Esta es, de entre las numerosas limitaciones posibles, la fuente de error más común en la aplicación de modelos predictivos en microbiología. Conviene resaltar que, si

bien este error puede llevarnos a resultados no válidos, lo que verdaderamente implica es que se está utilizando una herramienta equivocada para el fin que se desea, y no que la propia herramienta sea inútil (Ross et al. 2000; McMeekin et al. 2002).

Así, cuando el acontecimiento de este sesgo limita la actuación del modelo, la respuesta más acertada sería la de elaborar un modelo específico dirigido a una aplicación concreta, y no abandonar el enfoque predictivo (Dalgaard et al. 1997, 2002; McMeekin et al. 2002).

⇒ **“Efecto histórico”** (*“History effect”*)

Las condiciones de incubación previas a la inoculación del microorganismo a estudiar pueden afectar al crecimiento del mismo (Walker, 1990; Fu et al. 1991; Buchanan et al. 1991; Fakruddin et al. 2011), especialmente factores determinantes como la temperatura, *“temperatura history”* (Fu et al. 1991 y Fakruddin et al. 2011), y el pH.

Para intentar “combatir” este efecto, es objeto de debate si sería o no conveniente que los modelos se desarrollaran utilizando los propios alimentos, y no un cultivo de laboratorio, como medio de sustrato y buscando, así, una forma de validación del modelo bajo condiciones realistas y prácticas (Dalgaard, 1995; Fakruddin et al. 2011). Del mismo modo y, sin una explicación biológica evidenciada y aceptada en la comunidad científica, se ha observado cómo muchos modelos tienden a sobreestimar el crecimiento de los microorganismos.

Además, existen dos criterios relativamente aceptados que han de cumplirse en cualquier forma de aplicación de un modelo predictivo; por un lado, el modelo ha de estar lo más validado posible y, por otro, el sujeto que lo utilice debe conocer y entender la significación estadístico y biológico de los resultados (McMeekin et al. 2002; Giffel y Zwietering, 1999).

Se ha observado, del mismo modo, una cierta tendencia de los modelos a sobreestimar el crecimiento microbiano y predecir tiempos de crecimiento algo menores de los que se observan (Fakruddin et al. 2011; Baranyi et al. 1999). Esto les convierte en, como se ha comentado en el apartado de validación, *fail-safe models*, cuyo significado ya hemos explicado (Fakruddin et al. 2011; Ross, 1996).

Comparación de Gompertz con otros modelos

La realización y el contenido de este apartado se fundamenta en dos estudios publicados en revistas importantes, en los que se compara el modelo de Gompertz con otros (el logístico y el de Baranyi). Por tanto, no voy a referenciar cada idea o cada figura como en otros apartados, pues la fuente es la misma del estudio de que se trate.

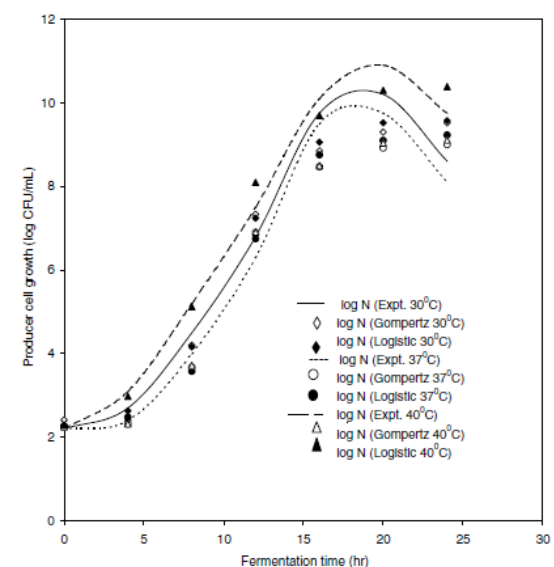
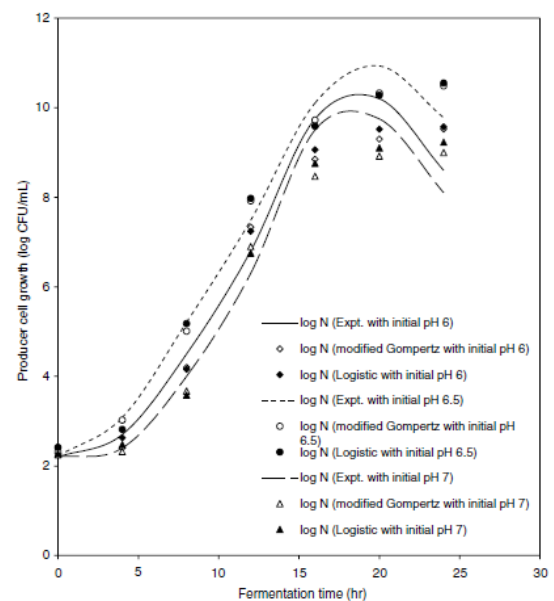
- Chowdhury BR et al. (2007). Validity of modified Gompertz and Logistic models in predicting cell growth of *Pediococcus acidilactici* H during production of bacteriocin pediocin AcH. Journal of Food Engineering, 80: 1171-1175.

Los datos de crecimiento utilizados se tomaron de un estudio previo (del mismo grupo de investigación, en el 2003), en el que se estudiaban las condiciones óptimas de crecimiento de la bacteria en cuestión. En este trabajo, se compara la *performance* del modelo logístico y del de Gompertz.

Bien, lo primero que hicieron fue evaluar la viabilidad de ambos modelos en cuanto a la descripción del crecimiento de la bacteria, ajustando los datos del estudio previo a ambos modelos con variaciones de pH y temperatura (Figuras 10 y 11).

Figuras 10 y 11. Curvas obtenidas de la evaluación de los modelos.

Los parámetros que miden ambas ecuaciones fueron evaluados a través, principalmente, de la MSE y el *bias factor* (Tabla 7).



Initial pH	Temperature (°C)	Bias factor		MSE	
		Logistic	Modified Gompertz	Logistic	Modified Gompertz
7.0	37	1.00	0.994	0.0126	0.0138
6.0	37	0.998	0.994	0.0119	0.0131
6.5	37	1.001	1.000	0.0102	0.0089
6.5	40	1.072	1.001	0.0076	0.0063
6.5	30	0.995	0.997	0.0084	0.0068

Tabla 7. Comparación del modelo logístico y el de Gompertz en la predicción de crecimiento de acuerdo con elementos estadísticos de validación. Fuente: Chowdhury et al. 2007.

Resultados y conclusiones:

En general, se encontró que ambos modelos se ajustaban bien a los datos experimentales de crecimiento. De hecho, podemos ver cómo ambos tienen factores *bias* próximos a 1 y valores bajo de MSE.

- A 37°C y un pH inicial de 6 o de 7, el modelo logístico presenta un mejor ajuste, como se deduce de los valores de MSE y *bias*.
- En cambio, en otras condiciones, los valores de *bias* son más cercanos a 1 y los de MSE más bajos en el modelo de Gompertz (Tabla 7).

Como conclusión, el de Gompertz es el modelo cuya predicción respecto a la MPD (máxima densidad de población) mejor se ha ajustado a los datos experimentales, atendiendo, fundamentalmente, a los valores citados anteriormente.

- Buchanan et al. (1997). When simple is good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth rates. Food Microbiology, 14:313-326.

En este estudio, se pretende comparar las *performances* de los modelos Gompertz y Baranyi en relación con uno de tres fases más sencillo y lineal. El modelo lineal de tres fases puede describirse, en función de las tres fases (valga la redundancia) de la siguiente forma:

<p>Lag Phase: For $t \leq t_{LAG}$, $N_t = N_0$</p> <p>Exponential Growth Phase: For $t_{LAG} < t < t_{MAX}$, $N_t = N_0 + \mu(t - t_{LAG})$</p> <p>Stationary Phase: For $t \geq t_{MAX}$, $N_t = N_{MAX}$</p>	<p>Donde N_t = log de densidad de población al tiempo t [log (cfu ml⁻¹)]; N_0 = log de densidad de población inicial [log (cfu ml⁻¹)]; N_{max} = log de MPD [log (cfu ml⁻¹)]; t = tiempo transcurrido (h); t_{lag} = tiempo en el que acaba la fase de latencia (h); t_{max} = tiempo en el que se alcanza la MPD; μ = ratio específico de crecimiento [log (cfu ml⁻¹)h⁻¹].</p>
---	--

Figura 12. Fórmulas para las distintas fases que considera el modelo de tres fases. Fuente: Buchanan et al. 1997.

Resultados y conclusiones:

Utilizando los modelos que se quieren comparar para los mismos datos experimentales y comparando los valores de MSE, se ve cómo, si bien el de Gompertz tiene los valores más altos y el de Baranyi los más bajos, ninguno de los tres destaca de manera relevante, pues las diferencias son mínimas.

En cuanto a los tiempos de crecimiento, el modelo lineal de tres fases presenta unos tiempos que superan una media de un 22 y un 32% a los obtenidos por el de Gompertz y el de Baranyi, respectivamente. Se señala que esta notable diferencia puede deberse a que el de tres fases asume que la velocidad de crecimiento en la fase exponencial es constante; mientras que el ratio de crecimiento, en los otros dos, va cambiando con el tiempo.

Los valores de MPD de las predicciones han sido similares en los tres modelos; aunque en el de Gompertz se aprecia una cierta sobreestimación de este parámetro.

Concluye con que los tres modelos presentan un buen ajuste a los datos experimentales, haciendo especial hincapié en la validez del de tres fases que, pese a su sencillez y menor trabajo matemático, nos da resultados muy parecidos a los de otros más utilizados (en este caso, los de Gompertz y Baranyi).

Conclusiones

- ✓ La microbiología predictiva, pese a estar presente ya en el mercado industrial y alimentario, requiere de una mayor reglamentación que permita su desarrollo y aceptación en toda la comunidad científica.
- ✓ Del mismo modo, es necesario establecer criterios de validación concretos y universales, que sirvan como bases metodológicas para todos los modelos predictivos.
- ✓ El Modelo de Gompertz es uno de los que mayor relevancia histórica ha tenido, y tiene, en relación a la microbiología de los alimentos y la seguridad alimentaria.
- ✓ La integración del Modelo de Gompertz en el sistema APCCC, y de otros de similar validez, supone una eficaz herramienta en la implementación de la seguridad alimentaria.
- ✓ El empleo de la metodología propia de la microbiología predictiva y los modelos de predicción se traduce en una mejora en materia de salud pública global y favorece el desarrollo de un sistema de seguridad centrado en la inocuidad de los alimentos.

Referencias y bibliografía

Adair C et al. (1989). Comparison of the Schoolfield (non-linear Arrhenius) model and the square root model for predicting bacterial growth in foods. *Food Microbiology*, 6: 7-18.

AECOSAN (2016). Seguridad Alimentaria, Evaluación de Riesgos.

http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/web/seguridad_alimentaria/seccion/evaluacion_de_riesgos.shtml

AESAN (2011). "El análisis de riesgos como proceso básico en la toma de decisiones en seguridad alimentaria".

Baranyi J et al. (1995). Prediction growth of *Brochothrix thermosphacta* at changing temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 27: 61-75.

Baranyi J and Roberts TA (1994). A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23: 277-294.

Baranyi J et al. (1999). Validating and comparing predictive models. *International Journal of Food Microbiology*, 48; 159-166.

Brugalla MV (2007). Aplicación de la microbiología predictiva en la industria alimentaria. Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona.

Buchanan RL and Klawitter LA (1991). Effect of temperature history on the growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 12: 235-246.

Buchanan RL and Phillips JG (1990). Response surface model for predicting the effects of temperature, pH, sodium chloride content, sodium nitrite concentration and atmosphere on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Protection*, 53: 370-376.

Buchanan RL et al. (1997). When simple is good enough: a comparison of the Gompertz, Baranyi, and three-phase linear models for fitting bacterial growth curves. *Food Microbiology*, 14: 313-326.

Cassin MH et al. (1998). Quantitative risk assessment for *Escherichia coli* O157-H7 in ground beef hamburgers. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 21-44.

CDC (2011). CDC Estimates of Foodborne Illness in the United States.
<http://www.cdc.gov/>

Chowdhury BR et al. (2007). Validity of modified Gompertz and Logistic models in predicting cell growth of *Pediococcus acidilactici* H during production of bacteriocin pediocin AcH. Journal of Food Engineering, 80: 1171-1175.

Codex Alimentarius (2014). Principios y directrices para la aplicación de la evaluación de riesgos microbiológicos. CAC/GL 30-1999. Adoptado en 1999. Enmendado en 2012 y 2014.

Dalgaard D et al. (1998). Predicted and observed growth of *Listeria monocytogenes* in seafood challenge tests and in naturally contaminated cold-smoked salmon. International Journal of Food Microbiology, 40: 105-115.

Duffy LL et al. (1994). Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effects of pH, aw, nitrite and ascorbate. International Journal of Food Microbiology, 23: 377-390.

Encyclopedia (2016). Complete Dictionary of Scientific Biography. Gompertz, Benjamin.

Coll-Cárdenas F et al (2001). El modelado matemático: una herramienta útil para la industria alimenticia. Ciencia veterinaria. Biblioteca UNIPAM.

FAO (2011). “La Seguridad Alimentaria: información para la toma de decisiones”. Programa CE-FAO.

<http://www.fao.org/docrep/014/al936s/al936s00.pdf>

FAO Corporate Document Repository. Assessment and Management of Seafood Safety and Quality.

<http://www.fao.org/docrep/006/y4743e/y4743e0o.htm>

FAO/WHO, Roma (2006). Food safety risk analysis: a guide for national food safety authorities. FAO Food and nutrition paper 87, Chapter I; 1-11.

FDA (2016). Evaluation and Definition of Potentially Hazardous Foods – Chapter 3. Factors that Influence Microbial Growth.

<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm094145.htm>

Fu X et al. (1991). Predictive microbiology for monitoring spoilage of dairy products with time-temperature integrators. *Journal of Food Science*, 56: 1209-1215.

García RM (2003). *Microbiología Predictiva*. Grupo de investigación HIBRO, AGR-0170. Dpto de Bromatología y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Córdoba.

Gathright WE (1991). Refinements in the prediction of microbial growth curves. *Food Microbiology*, 8: 239-248.

Gibson R et al. (1988). Predicting microbial growth: Growth responses of *Salmonella* in a laboratory medium as defined by pH, sodium chloride and storage temperature. *International Journal of Food Microbiology*, 6: 155-178.

Giffel MC y Zwietering MH (1999). Validation of predictive models describing the growth of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 46; 135-149.

Grau FH and Vanderlinde PB (1993). Aerobic growth of *Listeria monocytogenes* on beef lean and fatty tissue: equations describing the effects of temperature and pH. *Journal of Food Protection*, 56: 96-101.

Hooker, PF (1965). Benjamin Gompertz, 1779-1865. *Journal of the Institute of Actuaries (JIA)* 1965, 91:203-212.

Junta de Castilla y León, Consejería de Sanidad. Red de Vigilancia Epidemiológica de Castilla y León. Programa de vigilancia para el control de los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. Año 2010.

Kirkwood TBL. 2015. Deciphering death: a commentary on Gompertz (1825) 'On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies'. *Phil. Trans. R. Soc. B* 370: 20140379.

McClure et al. (1994). Modeling the growth, survival and death of microorganisms in food. *International Journal of Food Microbiology*, 23: 265-275.

McDonald K y Sun DW (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 52: 1-27

McMeekin TA et al (1993). Predictive microbiology theory and application: Is it all about rates? *Food Control* 29: 290-299.

McMeekin TA y Ross T (2002). Predictive microbiology: providing a knowledge-based framework for change management. *International Journal of Food Microbiology* 78: 133-153.

McNab WB (1998). A general framework illustrating an approach to quantitative microbial food safety risk assessment. *Journal of Food Protection*, 61: 1216-1228.

Fakruddin MD et al (2011). Predictive microbiology: Modeling microbial responses in food. *Ceylon Journal of Science (Bio.Sci.)* 40 (2): 121-131.

Membré JM et al (2008). Application of predictive modeling techniques in industry: from food design up to risk assessment. *International Journal of Food Microbiology* 128: 10-15.

O'Connor JJ y Robertson EF (2005). Benjamin Gompertz. School of Mathematics and Statistics, University of St. Andrews, Scotland.

Virto R (2013). Aplicación de la microbiología predictiva para la cuantificación del riesgo de *Listeria monocytogenes*. Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria. Área de I+D+i.

Reglamento (CE) 2073/2005, de 15 de noviembre de 2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

Roberts TA (1989). Combinations of antimicrobials and processing methods. *Food Technology*, 43: 156-163.

Ross T (1996). Indices for performance evaluation of predictive models in food microbiology. *Journal of Applied Bacteriology*, 81(5); 501-508.

Ross T, McMeekin TA. Predictive microbiology. *International Journal of Food Microbiology*. 1994 Nov;23(3-4):241-64.

Ross T, McMeekin TA. Predictive microbiology and HACCP. In: Pearson AM, Dutson TR, editors. HACCP in meat, poultry and fish processing. London: Blackie Academic and Professional; 1995. p. 330-53.

Signorini, ML. Modelo matemático predictivo del crecimiento de *Escherichia coli* O157 en carne vacuna. *InVet* (2008), 10(1): 47-57

Sutherland JP et al. (1994). Predictive modeling of *Yersinia enterocolitica*: the effects of temperature, pH and sodium chloride. International Journal of Food Microbiology, 21: 197-215.

USDA (2016). Predictive Microbiology Information Portal. Overview of Predictive Microbiology. Phases of Bacteria Growth. <http://portal.errc.ars.usda.gov/Overview.aspx>

USDA (2016). Predictive Microbiology Information Portal. Overview of Predictive Microbiology. Introduction. <http://portal.errc.ars.usda.gov/Overview.aspx>

Vandepitte V (1995). Evaluation of the Gompertz Function to model survival of bacteria introduced into soils. Soil. Biol. Biochem. Vol 27. No 3: 365-372.

Vose DJ (1998). The application of quantitative risk assessment to microbial food safety. Journal of Food Protection, 61, 640-648.

Walker SJ et al. (1990). Growth of *Listeria monocytogenes* at refrigeration temperatures. Journal of Applied Bacteriology, 68: 157-162.

Whiting RC (1993). Microbial Modelling in Foods. Eastern Regional Research Center, Agricultural Research Service, USDA – 006219.

Whiting RC and Buchanan RL (1993). A classification of models for predictive microbiology. Food Microbiology, 10: 175-177.

WHO (2015). Estimates of the Global Burden of Food borne Diseases. Food borne Disease Burden Epidemiology Reference Group, 2007-2015.

Yarce CJ (2013). Predictive microbiology: a rising science. Reviste Inge-UAN, 3 (6): 31-43.