

Los microorganismos más persistentes en los entornos de producción y procesamiento de alimentos



Introducción

Listeria monocytogenes –en los sectores de carne, pescado y marisco, lácteos, frutas y hortalizas–, *Salmonella enterica* –en los sectores de carne, huevos y alimentos con baja actividad agua (aw)– y *Cronobacter sakazakii* –en el sector alimentario de baja aw– son los peligros biológicos más persistentes y al mismo tiempo relevantes en los entornos de elaboración de alimentos. Con una incidencia menor señalaríamos *Campylobacter spp.* y *Escherichia coli O157:H7*.

No obstante, las bacterias que predominan en el entorno de producción de alimentos suelen ser especies no patógenas de *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Staphylococcus*. Las bacterias patógenas presentes en un biofilme muy probablemente en realidad formarán parte de un biofilme multiespecie.

Peligros bacterianos más relevantes por sectores:

- Carne y productos cárnicos: *S. enterica* subespecie entérica (sobre todo serovares *Enteritidis* y *Typhimurium*), *L. monocytogenes*, *E. coli* patógenos humanos, *C. jejuni* y *C. coli*, y *Clostridium perfringens* y *Clostridium botulinum*.
- Pescado y productos del mar: *S. enterica*, *L. monocytogenes* y *V. Parahaemolyticus*.
- Leche y productos lácteos: *S. enterica*, *Campylobacter spp.*, *E. coli* patógena humana, *L. monocytogenes* y *S. aureus*.

acsa brief

Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria

Enero-Febrero 2024

- Frutas y verduras enteras, cortadas o congeladas, bayas, zumos y productos derivados: *S. enterica*, *E. coli* patógena humana y *L. monocytogenes*.
- Alimentos con baja aw: *S. enterica* está frecuentemente implicada en brotes asociados a productos de confitería y aperitivos, productos de chocolate, frutos secos y cereales, frutas y verduras secadas, semillas para el consumo y alimentos en polvo, incluidos los que son para recién nacidos; *B. cereus* también aparece en numerosos casos a partir de productos a base de cereales, especialmente arroces cocinados y platos de pasta, especias y hierbas aromáticas secadas; *E. coli* patógena humana ha intervenido en numerosas incidencias en productos a base de cereales (harinas), frutos secos y productos de fruta seca; y *C. sakazakii*, en fórmulas infantiles en polvo.

Factores que aumentan la probabilidad de persistencia de microorganismos en el ámbito de las instalaciones

- Lugares más comunes donde se aísla ***L. Monocytogenes*** persistente

Son **los equipos**. Por ejemplo, máquinas de batido de leches, mesas, utensilios para evisceración y eliminación de cabeza/cola, filetear y descascarar pescado y marisco o cajas/cubetas/bandejas de pescado y marisco, frutas y verduras. Asimismo, se aíslan de los desagües, los suelos (grietas, superficies porosas) y las cintas transportadoras (zonas desgastadas).

El aislamiento repetido de *L. monocytogenes* de los drenajes y suelos puede indicar la persistencia en otros lugares del entorno de procesamiento; actúan como lugares colectores.

El principal factor de riesgo para la persistencia de *L. monocytogenes* es el mal diseño higiénico de los equipos/máquinas —p. ej., máquinas difíciles de desmontar para limpiar. Eso conduce a nichos difíciles de limpiar desinfectar y donde se pueden acumular restos de alimentos y humedad. Otros factores de riesgo que influyen son una limpieza y desinfección inadecuadas, una zonificación deficiente, materias primas contaminadas y humedad elevada.

Tabla 1 Factores que afectan a la supervivencia y el crecimiento de *Listeria monocytogenes*

Factores	Límite inferior	Óptimo (más rápido)	Límite superior	Puede sobrevivir* (no puede crecer)
Temperatura (°C)	-1.5 a +3.0	30.0 a 37.0	45.0	-18.0
ph	4.2 a 4.3	7.0	9.4 a 9.5	3.3 a 4.2
Actividad de agua (aw)	0.90 a 0.93	0.99	>0.99	<0.90
Concentración de sal (%)	<0.5	0.7	12-16	≥ 20

Atmosfera: Anaerobio facultativo (puede crecer en presencia y ausencia de oxígeno; p. ej., en envases al vacío o en atmósfera protectora).

Tratamiento térmico durante la elaboración: Se requiere una combinación de temperatura/tiempo de 70°C durante 2 minutos por una reducción D-6 (o sea, 10⁶ o de 6 decimales) del número de células de *Listeria monocytogenes*. Otras combinaciones tiempo/temperatura también podrían conseguir la misma reducción.

*El período de supervivencia variará dependiendo de la naturaleza del alimento y de otros factores.

Posibles acciones ante *Listeria monocytogenes*:

- **Obstáculos físicos:** Tratamiento térmico, temperatura de almacenaje, irradiación, energía electromagnética, inactivación fotodinámica, Ultra de Alta Presión (UHPH), ultrasonidos, envasado (activo, al vacío), envasado en atmósferas modificadas, envasado aséptico almacenaje en atmósferas modificadas, almacenaje en atmósferas controladas y almacenaje hipobárico.
- **Obstáculos fisicoquímicos:** aw, ph, ozono, humo, nitrato, nitrito, ácidos orgánicos, fosfatos, potencial Redox, dióxido de carbono, ácido ascórbico, glucuro lactona, sal, oxígeno, sulfito, fenol, etanol, lisozima, productos de la reacción de Maillard, hierbas y especias.
- **Obstáculos biológicos:** Flora competitiva, cultivos iniciadores, bacteriocinas y antibióticos.

- La persistencia de *Salmonella*

El principal reservorio de salmonela no tifódica es el tracto gastrointestinal de los animales de sangre caliente: mamíferos (porcino, vacuno, roedores, etc. y aves salvajes y domésticas). Algunas cepas también se pueden aislar de animales de sangre fría (moluscos, pescados, reptiles, incluidas las tortugas). El reservorio animal constituye la principal fuente de peligro; los animales son a menudo portadores asintomáticos. Es notable la capacidad de la salmonela para sobrevivir a bajas temperaturas y en entornos secos.

Las plantas y, en particular, las semillas germinadas también pueden contener salmonela, ya sea por el uso de fertilizantes o agua contaminados, o por prácticas deficientes de recolección y preparación.

Los principales factores de riesgo para la persistencia de *Salmonella* son: (y) barreras higiénicas y zonificaciones inadecuadas, que permiten la contaminación de zonas limpias con residuos de zonas sucias, especialmente en plantas de procesamiento de carne, aves de corral y huevos; (ii) un diseño de higiene defectuoso, que puede provocar la concentración de cepas en nichos y protegerlos de la exposición a desinfectantes; (iii) falta de oreo/ventilación suficiente o presencia de polvo (especialmente en ambientes secos); (iv) la limpieza y desinfección inadecuada de las instalaciones (p. ej., suelos, desagües, esteras, equipos de escaldado y desplumado, etc.); y (v) fallos de higiene en la recepción de materias primas.

En la zona sucia de los mataderos de cerdos y aves de corral tienen lugar las actividades donde las canales son más propensas a la contaminación, el aturdimiento, el sangrado y la depilación y el desplumado. La contaminación se asocia principalmente a las pieles y la acumulación de materia orgánica en el agua de escaldado, o a los equipos de depilación y desplumado. En la zona limpia, la contaminación se puede producir durante la evisceración, despique y deshuesado, y está relacionada principalmente con la fuga de contenido intestinal y el uso de equipos mal limpiados. Una vez la *Salmonella* entra en un matadero, puede pasar a formar parte de la microbiota residente, habitar determinados nichos y constituir un depósito de contaminación renovable, independiente de las materias primas entrantes. Hay que subrayar que para los mataderos de aves de corral los lugares de contaminación más críticos son la hoja del cuchillo para cortar el cuello, el depósito de escaldado y el depósito de refrigeración de inmersión. El hecho de no cambiar ni desinfectar el agua, o de mantener temperaturas lo bastante elevadas (por ejemplo, > 60 °C para la carne de cerdo) en los procesos de uso de agua, aumenta la probabilidad de contaminación.

- Los lugares más comunes de contaminación persistente con ***Cronobacter sakazakii***

Cronobacter spp. son microorganismos telúricos, omnipresentes, presentes en el agua, el suelo, el polvo y en muchos seres vivos. Su fuente principal son las plantas. Los roedores y los insectos, como las moscas, pueden ser vectores de contaminación. La transmisión a los humanos se produce exclusivamente a través de los alimentos. Un porcentaje significativo de los niños y adultos presentan *Cronobacter* spp. en el excremento y en la piel, y en la flora bucal.

En general, el nivel de contaminación de las empresas alimentarias por *Cronobacter* es bajo pero, después de la rehidratación, *Cronobacter* puede crecer rápidamente: el tiempo de generación es de 300 minutos a 10 °C, 40 minutos a 23 °C y 20 minutos a 37 °C. Puede utilizar el ácido siálico como única fuente de carbono y, por lo tanto, crecer en la leche materna y la fórmula infantil.

Las contaminaciones persistentes se suelen producir en las zonas de secado y envasado. Los secaderos y las torres de secados, las aspiradoras, los tubos y los grumos de polvo son críticos en las empresas elaboradoras de alimentos con poca aw. Por ejemplo, la contaminación de la fórmula infantil en polvo puede tener lugar por la adición de ingredientes contaminados como almidones, proteínas o lecitina. Los procesos de mezcla en seco de ingredientes tienen un riesgo más elevado de contaminación del producto final.

Se han identificado factores de riesgo relacionados con barreras higiénicas y zonificaciones inadecuadas; limpieza y desinfección inadecuadas de las instalaciones; movimiento de mercancías o personal; y el movimiento de aire y polvo (por ejemplo, transmisión por el aire mediante la apertura de filtros para la limpieza mecánica o el uso de aspiradoras en operaciones de limpieza en seco).

Aunque la limpieza en seco es la opción preferida en el sector de productos con baja aw, a veces se utilizan cantidades limitadas de agua, donde hay que aplicar acto seguido un secado rápido y completo de las superficies limpiadas. La humedad y la condensación provocarían un crecimiento rápido de los microorganismos que colonizan las instalaciones. Los residuos húmedos en nichos como grietas, que no se pueden secar rápidamente ni completamente, tienen un riesgo significativo.

acsa brief

Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria

Enero-Febrero 2024

C. sakazakii tiene una alta resistencia a la desecación y al calor gracias a la capacidad de formar biofilmes en una variedad de superficies abióticas, como silicio, látex, policarbonato, acero inoxidable, vidrio o cloruro de polivinilo. En fórmulas infantiles en polvo, donde la a_w es de aproximadamente 0,2, sobrevive hasta dos años y, en cereales infantiles, hasta 24 semanas. Puede sobrevivir al proceso de secado por pulverización, pero es poco probable que sobreviva a los tratamientos térmicos previos. La resistencia a la desecación está positivamente correlacionada con la resistencia al calor y a la formación de biofilme. *C. sakazakii* puede producir una cápsula que la ayuda a formar biofilmes, proporciona resistencia a los biocidas y al estrés osmótico y contribuye a la supervivencia después de la desecación. También produce un pigmento carotenoide amarillo que estabiliza las membranas celulares y proporciona protección contra el estrés oxidativo, la radiación UV directa y la desecación.

Medidas de seguimiento, prevención y/o control

En general las estrategias destinadas a controlar un patógeno en el entorno de procesamiento a menudo también tienen efectos en las otras bacterias.

- Medidas de higiene para ***Listeria monocytogenes***

Es un microorganismo omnipresente. Por lo tanto, puede ser transmitido a la instalación de procesamiento por la materia prima, los trabajadores, las herramientas, los camiones, etc., donde puede persistir. Hay que dirigir los esfuerzos a evitar la entrada de *L. monocytogenes* en torno a procesamiento. Las buenas prácticas de fabricación y la formación de los empleados lo facilitarán. Además, es necesario un plan de APPCC que se centre en el entorno de producción, las personas y la instalación y, en consecuencia, que minimice la oportunidad de entrada de contaminación y su propagación. Las instalaciones y los equipos de producción tendrían que cumplir las normativas y los estándares internacionales de diseño higiénico, como las normas ISO (International Organization for Standardisation), de manera que, si entrara contaminación en la instalación, las oportunidades de persistir serían limitadas.

acsa brief

Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria

Enero-Febrero 2024

También es fundamental mantener los equipos y proteger las líneas de producción durante cualquier obra de construcción. La zonificación adecuada también resulta imprescindible. La zonificación empieza con la definición de zonas húmedas y secas, y, dentro de estas, se definen niveles de zonas de higiene básica, media y alta. Las zonas secas se tienen que mantener secas para evitar el crecimiento de bacterias, ya que estas no se multiplicarán en ausencia de agua. Es un ejemplo el hecho de que el lavado de manos provoca un aumento de la humedad en torno a la zona seca. Por lo tanto, se tendría que evaluar donde se ubican los lavamanos y también habría que evitar los secadores de manos de aire.

Las rutinas de limpieza de instalaciones y equipos se tienen que diseñar para prevenir la adhesión de bacterias: las bacterias persistentes pueden tener una mayor capacidad de adherirse a las superficies y formar biofilme. No es posible identificar un solo material que sea resistente a la adhesión bacteriana y adecuado para todos los propósitos. Sin embargo, el acero inoxidable es el material con menor adherencia de microorganismos y el más fácil de limpiar. La persistencia se ha relacionado con el uso de materiales porosos (evitar superficies desgastadas). El uso de materiales antiincrustantes o antibacterianos en las instalaciones de producción ayudará a evitar la formación de biofilmes. Los biofilmes microbianos se pueden eliminar mediante agentes de limpieza habituales basados en detergentes alcalinos clorados y energía mecánica, aunque se puede incluir periódicamente un paso de limpieza adicional con un limpiador ácido para eliminar las capas de sales inorgánicas que pueden proteger las bacterias. En realidad, la aplicación de la mayoría de los desinfectantes en las dosis y el tiempo de aplicación adecuados (previa limpieza) es eficaz.

- Medidas frente a ***Cronobacter sakazakii***

La estrategia que ha contribuido a la reducción más espectacular de *Cronobacter* spp. ha sido el lavado en seco. Por lo tanto, se tienen que limpiar en seco los secaderos de pulverización, las mezcladoras en seco, las máquinas de envasado y los silos de almacenaje. Las aspiradoras son las herramientas más habituales para la limpieza en seco. Las estrategias de prevención alternativas incluyen el uso de bacteriófagos como auxiliares de procesamiento.

acsa brief

Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria

Enero-Febrero 2024

Cronobacter spp. no sobrevive a la pasteurización. Los preparados en polvo se pueden contaminar por el entorno de producción a través el aire. Las materias primas que no han sido sometidas a ningún tratamiento térmico previo, que se integran en los alimentos deshidratados al final del proceso, también son la causa de la contaminación del producto final y/o de su entorno de producción. Por lo tanto, se hace imprescindible establecer criterios de calidad de las materias primas y de los ingredientes secos añadidos a los preparados en polvo.

- Medidas de control **genéricas** frente a los microorganismos persistentes

Establecer requisitos estrictos (que apliquen buenas prácticas de higiene, autocontroles de cariz microbiológico, etc.) a la hora de seleccionar a los proveedores de materias primas.

Llevar a cabo un programa de muestreo y unas pruebas ambientales es la estrategia más eficaz para identificar fuentes de contaminación y detectar peligros potencialmente persistentes. Se tiene que diseñar siguiendo un enfoque basado en el riesgo, definiendo límites para los resultados aceptables e inaceptables, y esbozando acciones de seguimiento en caso de resultados no conformes. Se tendría que revisar periódicamente basándose en el análisis de tendencias. Este programa tiene que formar parte del sistema de APPCC. Son los aspectos clave: identificar los puntos de muestreo y determinar los organismos objetivo, la frecuencia y el momento del muestreo y el número de muestras, el protocolo de muestreo y los métodos de prueba. El registro y la evaluación de los resultados tienen que ser los últimos pasos. Hay que insistir en centrar el muestreo en los lugares donde se espere la aparición de un microorganismo determinado y donde sea probable que se produzca la contaminación.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) han desarrollado un modelo de evaluación de riesgos para las especies de *Cronobacter* spp. en las fórmulas infantiles en polvo ([FAO/OMS, 2008](#)).

acsa brief

Agencia Catalana de Seguridad Alimentaria

Enero-Febrero 2024

Para confirmar la presencia de una cepa persistente e identificar el nicho dentro de la instalación, hay que hacer la caracterización utilizando métodos de subtipificación, preferiblemente mediante la secuenciación del genoma.

Una vez hecha la confirmación de un microorganismo persistente, hay que intensificar la vigilancia para identificar todos los puntos de refugio del microorganismo. Entre las medidas que hay que aplicar posteriormente puede ser adecuado el cierre temporal de una línea, el cambio de maquinaria, la intensificación o el cambio del plan de limpieza y desinfección, incluyendo un aumento del desmantelamiento previo a la limpieza, etc.

Aun así, no olvidemos *Campylobacter* spp.

Campylobacter jejuni y *Campylobacter coli* son las causas bacterianas más comunes de gastroenteritis transmitida por alimentos en humanos en todo el mundo. Se relaciona con el consumo de alimentos poco cocinados, leche no pasteurizada, alimentos RTE contaminados o con la ingesta de agua. El incremento de la resistencia a los antibióticos puede influir en su persistencia en las cadenas de producción alimentaria.

Hay que destacar que, en los mataderos de aves de corral, la contaminación cruzada se puede producir en las cajas de transporte de aves de corral, en diferentes pasos del sacrificio, especialmente el escaldado, desplumado y evisceración, y también en la venta al detalle. Los biofilmes multiespecies también incrementan la persistencia de *Campylobacter*. De manera similar a *L. monocytogenes*, se sospecha que los protozoos sirven como reservorios para *Campylobacter*.

Documentos de referencia

- [Persistence of microbiological hazards in food and feed production and processing environments](#); EFSA journal 19/01/2024.
- [Persistence of foodborne pathogens and their control in primary and secondary food production chains](#); Diferents autors, Elsevier, Food Control, Volume 44, October 2014, Pages 92-109.
- [Customizing Sanitization Protocols for Food-Borne Pathogens Based on Biofilm Formation, Surfaces and Disinfectants—Their Two- and Three-Way Interactions](#); Diferents autors; December 2023; Applied Microbiology. 4(1):27-46.
- [Factors that contribute to persistent *Listeria* in food processing facilities and relevant interventions](#): A rapid review; Elsevier, Food Control, Volume 133, Part A, March 2022.
- [An Agent-Based Model for Pathogen Persistence and Cross-Contamination Dynamics in a Food Facility](#); Amir Mokhtari, Jane M Van Doren; National Library of Medicine; 2019 May; 39(5):992-1021.
- [Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments](#) : Cronobacter spp. Saisine n°2016-SA-0082 Mise à jour : Février 2020 1 Cronobacter spp. Famille des Enterobacteriaceae Bactérie.
- [Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments](#) : Listeria monocytogenes Saisine n°2016-SA-0081 Mise à jour : Avril 2020 1 Listeria monocytogenes.
- [Documento de orientación técnica del laboratorio de referencia de la UE para Lm sobre ensayos de desafío y estudios de durabilidad para evaluar la vida útil de alimentos listos para el consumo en relación con *Listeria monocytogenes*](#) Versión 4 del 1 de julio de 2021.
- [Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments](#) : Salmonella spp. Saisine n°2016-SA-0080 Mise à jour : Juin 2021 1 Salmonella spp. Famille des Enterobacteriaceae Genre Salmonella Bactérie Agent zoonotiques.