

EL CONTROL DE LISTERIA MONOCYTOGENES PERSISTENTE EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS (YII)

AUNQUE LA ERRADICACIÓN DE LISTERIA MONOCYTOGENES PERSISTENTE EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS NO ES FÁCIL, PUEDE CONSEGUIRSE SU ELIMINACIÓN TOMANDO UNA SERIE DE MEDIDAS RELACIONADAS CON LA HIGIENE: A) MEJORAS EN EL DISEÑO HIGIÉNICO DE LOS LOCALES, INSTALACIONES Y EQUIPOS DE LAS INDUSTRIAS; B) IMPLEMENTACIÓN DE PROGRAMAS DE DETECCIÓN DE LA BACTERIA Y SUS BIOFILMS SOBRE SUPERFICIES DE LAS ZONAS DE TRABAJO Y C) MEJORAS EN LAS PRÁCTICAS DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN Y USO DE TÉCNICAS Y PRODUCTOS ESPECÍFICOS.

Enrique J. Orihuel Inanzo
Ramón Bertó Navarro
Juan José Canet Gascó
Fernando Lorenzo Cartón

BETELGEUX
www.betelgeux.es

• REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA DE AUTORES
La bibliografía completa de este artículo puede ser solicitada en alimentacion@rbi.es

SERVICIO EXCLUSIVO PARA SUSCRIPTORES

1. Diseño higiénico

En primer lugar es necesario aplicar mejoras en el diseño higiénico de las instalaciones, locales y equipos, de forma que se eviten las «zonas de refugio» en las que *L. monocytogenes* puede adherirse, proliferar, formar biofilms y convertirse en persistente. Estas mejoras incluyen:

- Sustituir los materiales de construcción no adecuados en los equipos e instalaciones, como es el caso de los materiales porosos. Los materiales apropiados no deben sufrir el ataque de los productos de limpieza o de los ingredientes de los alimentos, y deben poseer los acabados más convenientes, que son aquellos que presentan una menor rugosidad superficial.
- Evitar porosidades, rayados, grietas, renovando cuando sea necesario piezas o partes desgastadas por el uso (por ejemplo cintas transportadoras), de forma que se garantice el estado de conservación y mantenimiento.
- Evitar que queden zonas inaccesibles a los productos, a la acción de la energía mecánica que se aplica durante la limpieza y a la acción de los operarios encargados de la limpieza y desinfección. Debe asegurarse la «limpiabilidad» de todos los elementos, es decir, el diseño de los equipos de trabajo debe evitar que se formen nichos de microorganismos debido a la existencia de huecos, recovecos y zonas ocultas, donde no puedan aplicarse bien los procesos de limpieza y desinfección.
- Reducir al máximo los salientes, rebordes y repliegues de los ensamblajes, para que puedan



Listeria monocytogenes es uno de los patógenos alimentarios que causan una mayor preocupación en la industria, debido a su alto índice de mortalidad y a su capacidad para sobrevivir en condiciones adversas

limpiarse y desinfectarse fácilmente cuando sea necesario, y procurar que las superficies internas estén empalmadas por cavetos de radio suficiente para posibilitar una limpieza completa.

2. Detección de la bacteria y de sus biofilms

La detección de *Listeria monocytogenes* en los locales, instalaciones y equipos de las industrias es una premisa ineludible para la eliminación de las cepas persistentes de la bacteria. Si no conocemos en qué puntos se «refugian» las cepas persistentes, difícilmente se podrán adoptar medidas adecuadas para su eliminación. Al mismo tiempo, la evaluación continuada de la eficacia de las operaciones de limpieza y desinfección es también fundamental para conseguir resultados favorables, no sólo en el control de *L. monocytogenes* sino, en general, para el control de cualquier tipo de contaminación microbiológica presente en las industrias alimentarias. Para ello es necesario:

- Aplicar programas sistemáticos para la detección de la contaminación microbiológica superficial. Existen muchas técnicas disponibles para la detección genérica de microorganismos en superficies, tales como la inoculación por contacto de superficies utilizando placas Rodac, que se suele aplicar para recuentos de microorganismos indicadores como recuento total y recuento de enterobacteriaceas, o la ATP-metría (medida de la bioluminiscencia de adenosín trifosfato (ATP)). La aplicación de la metodología de «detección y control de puntos negros», resulta muy útil para focalizar los esfuerzos de mejora de la L+D, centrandos en los puntos o zonas donde la

HAY QUE EVITAR «ZONAS DE REFUGIO» EN LAS QUE *L. MONOCYTOGENES* PUEDE ADHERIRSE, PROLIFERAR, FORMAR BIOFILMS Y CONVERTIRSE EN PERSISTENTE



Figura 3: La aplicación y posterior aclarado del producto TBF 300 en una superficie de acero revela la presencia del biofilm por medio de una coloración permanente y detectable a simple vista

monitorización indica que no se elimina bien la suciedad y donde, consecuentemente, se presentan recuentos elevados de contaminación microbiana.

- Utilizar, complementariamente a los análisis de contaminación microbiológica superficial, técnicas específicas para la detección de *L. monocytogenes*. Se pueden utilizar diversas técnicas, siendo el principal problema el tiempo necesario para obtener resultados. Una técnica novedosa y muy rápida de detección de *L. monocytogenes* en superficies, que supera las limitaciones de las técnicas tradicionales, ha sido desarrollada mediante un proyecto financiado por la Comisión Europea dentro del 7º Programa Marco (Biolisme 2009).
- Utilizar técnicas para la detección del biofilm, como la tinción de la matriz del biofilm, recientemente desarrollada por Betelgeux. Esta novedosa técnica se basa en el empleo de agentes de tinción capaces de teñir la matriz extracelular, con colorantes seleccionados en función de su capacidad para teñir biofilms formados por algunos de los patógenos más comunes en la industria alimentaria (*Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis* y *Listeria monocytogenes*) y la ausencia de coloración en presencia de residuos habituales en las industrias alimentarias (grasa, proteínas, aceites, etc.). El test de detección de biofilms TBF 300 permite la detección rápida (no más de cinco minutos), sencilla y selectiva de biofilms en superficies como acero, aluminio o teflón, mediante la aplicación de los agentes de tinción sobre las superficies en forma de espuma (Figura 3).

EL CONTROL DE LISTERIA MONOCYTOGENES REQUIERE UN ADECUADO DISEÑO HIGIÉNICO DE LAS INSTALACIONES, EL EMPLEO DE TÉCNICAS APROPIADAS PARA SU DETECCIÓN Y LA MEJORA DE LAS PRÁCTICAS DE LIMPIEZA Y DESINFECCIONES

3. Mejora de las prácticas de limpieza y desinfección

Las prácticas de limpieza y desinfección son una de las herramientas más adecuadas para la erradicación de las cepas persistentes de *Listeria monocytogenes*. Los planes de higienización deben incluir medidas específicas para eliminar las cepas persistentes que, usualmente, encuentran en los biofilms un entorno favorable para su supervivencia y proliferación. Como ya se ha descrito, las contaminaciones superficiales persistentes tienen su origen en operaciones de limpieza insuficientes o inadecuadas en puntos concretos de las instalaciones. En estos puntos donde la limpieza ha sido defectuosa, que podemos definir como «puntos negros», se producen acumulaciones e incrustaciones de suciedad y se desarrollan biofilms. Estas acumulaciones, al no ser eliminadas, se convierten en nichos permanentes de microorganismos y desde estos nichos la bacteria se puede extender a otras zonas. A continuación se resumen una serie de recomendaciones genéricas para el desarrollo de procedimientos específicos para el control de *L. monocytogenes* persistente.

Los biofilms, como ya se ha descrito, limitan la acción de los desinfectantes y además, la eliminación del biofilm, incluyendo la disgregación de la matriz, no puede conseguirse mediante la aplicación de desinfectantes. Aunque un desinfectante consiga matar todas las células, la matriz formada por material polimérico extracelular persistiría, y en poco tiempo volvería a ser colonizado por otros microorganismos. La conclusión es que debe destruirse el biofilm en su totalidad y eso implica una acción energética de limpieza.

El tipo de limpieza a aplicar para la eliminación de incrustaciones y biofilms variará dependiendo de la «edad» de la incrustación o del biofilm. La mayor dificultad se presenta cuando llevan mucho tiempo sin haber sido eliminados, lo que hace necesario acciones de limpieza «de choque» para su destrucción. Por el contrario, cuando la limpieza diaria es suficiente para asegurar que se eliminan los biofilms e incrustaciones que se han formado en las últimas 24 horas, no son necesarias acciones de limpieza especiales.

Las limpiezas «de choque», destinadas a la destrucción de biofilms maduros y persistentes, implican el empleo de productos específicos que ayuden a reblandecer y disgregar la matriz del biofilm, como los productos detergentes especiales o los productos enzimáticos, particularmente formulados para atacar la matriz de los biofilms. Estos productos, para ser efectivos, deben usarse conjuntamente con el empleo de energía mecánica, bien por fregado manual, por circulación en régimen turbulento o por proyección de agua a presión, etc. Entre los productos específicos para la disgregación del biofilm pueden mencionarse:

- Productos de base enzimática, como Anioesterase SV, que son combinaciones de enzimas amilasas, lipasas y proteasas que catalizan la disociación de las exopolímeros que forman la matriz de los biofilms, junto con tensioactivos, que aumentan el poder mojante y de penetración del producto sobre las superficies.
- Productos con base química, como el recientemente desarrollado Betelene BF31, un detergente sanitizante neutro, específicamente diseñado para la disgregación de la matriz de exopolímeros, que contiene una combinación de ingredientes que actúan de forma sinérgica para degradar la matriz protectora del biofilm, provocar su desprendimiento y eliminar los patógenos presentes (Figura 4).

De forma general debe tenerse presente que los biofilms se forman preferentemente en puntos que «no se ven» o en zonas de difícil acceso y que, por tanto, el personal encargado de realizar la limpieza y desinfección tiene tendencia a no limpiar adecuadamente. Esto incluye instalaciones elevadas (tuberías, iluminación, estructuras, etc.), donde no se puede acceder sin utilizar escaleras o elevadores donde pueden producirse acumulaciones de polvo, suciedad y microorganismos que, posteriormente, debido a condensaciones de agua pueden provocar goteos contaminantes que transmitan la contaminación a los alimentos o a superficies en contacto directo con los mismos.

La desinfección posterior a la limpieza, cuando se aplica el producto a la dosis correcta y se deja en contacto con las superficies el tiempo suficiente, será usualmente efectiva siempre que se hayan eliminado correctamente los biofilms y los depósitos de suciedad. No debe limitarse la desinfección a las superficies en contacto directo con los alimentos, sino que todas las superficies deben ser desinfectadas, comenzando por las zonas más altas, para finalizar con los suelos. La alternancia de principios activos biocidas en los desinfectantes es importante para evitar fenómenos de tolerancia y adaptación de las bacterias.

La nebulización de productos desinfectantes en salas de producción de alimentos es una aplicación complementaria a los protocolos diarios de limpieza y desinfección y a las limpiezas «de choque». Mediante la nebulización se aplican los desinfectantes en forma de una niebla con un tamaño de partícula muy bajo, que se comporta como un gas. De este modo las partículas líquidas pueden alcanzar zonas ocultas y elevadas a las que no se accede mediante la desinfección convencional, extendiendo la acción desinfectante a zonas donde pueden refugiarse las cepas persistentes. La nebulización es conveniente realizarla semanalmente, siendo necesario mantener las salas desocupadas durante varias horas tras la aplicación del desinfectante. Ya que se espera que el desinfectante actúe incluso sobre zonas que no han podido limpiarse en profundidad, es necesario utilizar concentraciones de los principios activos superiores a las que se aplican por rociado o pulverización.

Conclusiones

Listeria monocytogenes es uno de los patógenos alimentarios que causan una mayor preocupación en la industria, debido a su alto índice de mortalidad y a su capacidad para sobrevivir en condiciones adversas para otros microorganismos. A su capacidad de supervivencia se une la capacidad para formar biofilms y para desarrollar tolerancia a los desinfectantes empleados, ocasionando la formación de colonias de bacterias persistentes que constituyen una fuente de contaminación crónica en la industria afectada. La aparición de estas cepas persistentes está relacionada principalmente con deficiencias en los mecanismos de control de *L. monocytogenes* en la industria, en lo que se refiere a las operaciones de limpieza y desinfección y a la detección de los microorganismos.

Por ello, el control de este patógeno requiere un adecuado diseño higiénico de las instalaciones, el empleo de técnicas apropiadas para su detección y la mejora de las prácticas de limpieza y desinfección. Estas actuaciones contribuyen a minimizar la presencia de cepas persistentes y permiten una mayor garantía de higiene y seguridad en los alimentos.

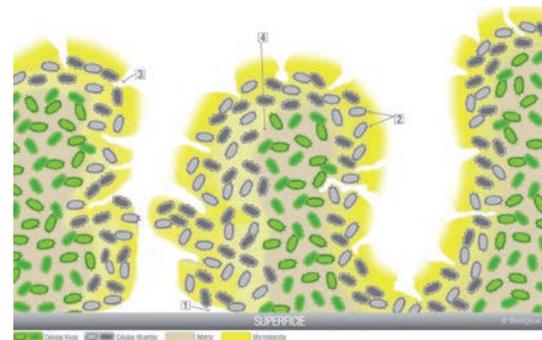


Figura 4: Acción del producto BETELENE BF31 sobre el biofilm



Las prácticas de limpieza y desinfección son una de las herramientas más adecuadas para la erradicación de las cepas persistentes de *Listeria monocytogenes*