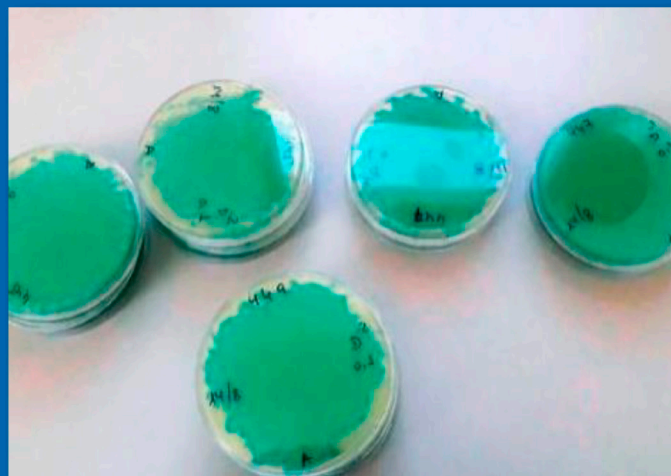


Directrices para el control de
Listeria monocytogenes
en productos cárnicos
listos para el consumo



Directrices para el control de
Listeria monocytogenes
en productos cárnicos listos
para el consumo

Consejería de Salud y Familias
Dirección General de Salud Pública y
Ordenación Farmacéutica

Año 2020

MARTÍN LINARES, María Ángeles.

Directrices para el control de *Listeria monocytogenes* en productos cárnicos listos para el consumo [Recurso electrónico] / autoría: M^a Ángeles Martín Linares, Mario Luis Delgado Muriel. -- [Sevilla] : Consejería de Salud y Familias, 2020.

Texto electrónico (pdf), 124 p. : il. col.

1. *Listeria monocytogenes*. 2. Contaminación de los alimentos. 3. Inspección de alimentos. 4. Productos de la carne. 5. Andalucía. I. Delgado Muriel, Mario Luis. II. Andalucía. Consejería de Salud y Familias.

QW 142.5.A8

Autoría:

M^a Ángeles Martín Linares, Doctora en Veterinaria. Cuerpo Superior Facultativo de IISS, de la Junta de Andalucía.

Mario Luis Delgado Muriel, Licenciado en Veterinaria. Cuerpo Superior Facultativo de IISS, de la Junta de Andalucía.

Agradecimiento:

A Ulises Ameyugo Catalán, Subdirector de Protección de la Salud de la Consejería de Salud y Familias de la Junta de Andalucía, por su colaboración y revisión.

Fecha de finalización: Noviembre 2019

1^a Edición, Febrero 2020



Esta obra está bajo una licencia Creative Commons

[Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Edita: Junta de Andalucía. Consejería de Salud y Familias.

Maquetación: Kastaluna.

Consejería de Salud y Familias: <https://juntadeandalucia.es/organismos/saludyfamilias.html>

Repositorio Institucional de Salud de Andalucía: www.repositoriosalud.es

- PRESENTACIÓN / 4
- INTRODUCCIÓN / 6
- PROGRAMA DE CONTROL DE *Listeria* EN PRODUCTOS ALC / 11
 - 1. PROGRAMA DE TOMA DE MUESTRAS / 13
 - 1.1 Muestreo de superficie de contacto con alimentos / 14
 - 1.2 Frecuencia de muestreo / 18
 - 1.3 Toma de muestras y métodos de análisis de laboratorio / 19
 - 2. FORMACIÓN / 31
 - 3. PROGRAMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN / 37
 - 3.1 Procedimientos de limpieza y desinfección / 41
 - 3.2 Control de temperatura y equipos de tratamiento / 45
 - 3.3 Diseño de equipos / 45
 - 3.4 Control de movimientos (flujos) / 47
 - 3.5. Higiene y prácticas higiénicas / 48
 - 3.6 Control de la contaminación cruzada / 50
- 4. ANEXOS / 51
 - Anexo 1 Recomendaciones para el muestreo de superficies / 52
 - Anexo 2 Puntos clave para un programa de control de *Listeria* para establecimientos que procesan productos listos para el consumo / 57
 - Anexo 3 Principios básicos de limpieza y desinfección / 61
 - Anexo 4 Zonificación higiénica y monitoreo ambiental / 76
 - Anexo 5 Recomendaciones para realizar los estudios de vida útil preceptivos en relación con *Listeria monocytogenes* / 88
 - Anexo 6 Información suplementaria sobre organismos patógenos transmitidos por alimentos / 103
 - Anexo 7 Control de *Listeria* en minoristas / 108
- 5. GLOSARIO DE TÉRMINOS / 117
- 6. REFERENCIAS / 121

Presentación

Para la Consejería de Salud y Familias resulta prioritario garantizar la salud de los andaluces. Para ello, al igual que ocurre en otros ámbitos, en materia de seguridad alimentaria la prevención también resulta indispensable. La modificación de hábitos alimentarios está dando lugar a que las empresas aumenten la producción de los alimentos listos para el consumo. La mayoría de estos productos por sus características físico-químicas (temperatura de conservación, pH y Actividad de agua, aw) son idóneos para la proliferación de la *Listeria monocytogenes*, lo cual junto con su forma de consumo, que no requiere un tratamiento que garantice la eliminación de *Listeria monocytogenes*, da lugar a la existencia de un riesgo que todo operador económico debe tener en cuenta y adoptar las medidas necesarias para controlarlo. En este sentido, la propia Unión Europea ha puesto en marcha diversas iniciativas con objeto de que las empresas alimentarias puedan demostrar que los alimentos que elaboran son seguros.

La industria agroalimentaria andaluza constituye una actividad de primera magnitud en la estructura productiva regional. Desde esta Dirección defendemos una Salud Pública que además de llevar al más alto nivel la protección de la Salud de la población no suponga un freno sino más bien un acicate tanto para el cumplimiento como para la internacionalización del sector agroalimentario andaluz. Es por ello que mediante este documento en un primer lugar y otro documento ("**Control de *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo**"), que lanzaremos próximamente, tratamos de difundir entre las empresas alimentarias, empresas dedicadas a la consultoría y los laboratorios que realizan las pruebas analíticas que correspondan, una herramienta práctica y eficaz que aúne las recomendaciones técnicas europeas, información del Código de Alimentos de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), bibliografía científica y otros documentos de pautas y conocimientos obtenidos del análisis de muestras del Servicio de Seguridad e Inspección de los Alimentos (FSIS) en esta materia.

Jose María de Torres Medina
Director General de Salud Pública y Ordenación Farmacéutica

Introducción

L monocytogenes (*Lm*) es una bacteria patógena que está muy extendida en el medio ambiente y puede “instalarse” en una fábrica de procesamiento de alimentos.

L monocytogenes puede contaminar los alimentos y causar una enfermedad leve (llamada gastroenteritis listerial) o una enfermedad grave, a veces potencialmente mortal (llamada listeriosis invasiva). Generalmente los alimentos que han estado implicados en brotes de listeriosis invasiva han sido alimentos listos para consumo (ALC).

Lm puede sobrevivir y proliferar a temperaturas por debajo de 0°C. Debido a sus características de proliferación y supervivencia, *Lm* en general persiste en el entorno y, comúnmente, se la conoce como organismo de anidación (es decir, puede formar nichos y proliferar hasta alcanzar grandes cantidades en el medioambiente; los nichos brindan un lugar ideal para que *Lm* se establezca y se multiplique). Puede contaminar de forma cruzada las superficies de contacto con alimentos y a los propios alimentos. La limpieza y desinfección ineficaces, la incorrecta manipulación del producto, un procesado deficiente y las prácticas higiénicas inadecuadas de los empleados, pueden permitir que *Lm* contamine los alimentos.

Los alimentos ALC pueden contaminarse si los ingredientes están contaminados con *L monocytogenes* y

éstos no llevan un tratamiento posterior para destruir células viables de este patógeno, o si *L monocytogenes* contamina los alimentos listos para el consumo (ALC) debido a condiciones o prácticas sanitarias inadecuadas. En muchos alimentos ALC, se puede evitar la contaminación con *L monocytogenes*, por ejemplo, mediante la aplicación de unas buenas prácticas de fabricación que establecen controles sobre los ingredientes, los procesos listericidas, la segregación de los alimentos que se han cocinado de los que no, y la limpieza y desinfección.

Los controles de limpieza y desinfección incluyen programas efectivos de vigilancia diseñados para identificar y eliminar *L monocytogenes* en superficies de contacto o en superficies de no contacto, en un establecimiento.

Según la evaluación de riesgos, los alimentos que se estima presentan el mayor riesgo de estar asociados con la listeriosis son alimentos ALC que favorecen el crecimiento de *L monocytogenes*:

- Pescado que se conserva mediante técnicas como el secado, ahumado y el marinado.
- Helados y otros productos lácteos congelados.
- Quesos de pasta blanda.



- Productos lácteos fermentados (por ejemplo, yogurt, crema agria, suero de leche).
- Quesos de pasta dura (menos del 39 por ciento de humedad) (por ejemplo, cheddar y parmesano)
- Platos preparados listos para consumo (incluyendo los productos cárnicos listos para consumir).
- Verduras y frutas cortadas.

Entre los alimentos ALC que no favorecen el crecimiento de *L. monocytogenes*:

- Actividad de agua ≤ 0.92 .
- $\text{pH} \leq 4.4$.
- $\text{pH} \leq 5$ y actividad de agua ≤ 0.94 .
- Productos con una vida útil inferior a 5 días, excepto cuando tengamos evidencias que no nos permitan descartar el riesgo.
- Productos que han recibido un tratamiento térmico eficaz para eliminar *Listeria monocytogenes* y cuya recontaminación posterior no es posible.
- Frutas y hortalizas frescas enteras y no transformadas, con exclusión de las semillas germinadas, azúcar, miel, golosinas, productos de cacao y chocolate, pan, galletas y productos similares, aguas

embotelladas y envasadas, bebidas refrescantes sin alcohol, cerveza, sidra, vino, bebidas espirituosas y productos similares, moluscos bivalvos vivos y sal de cocina.

En esta guía no vamos a tratar los procedimientos del proceso de elaboración (pH, aw, conservantes, tratamiento térmico o una combinación de varios), que según el análisis de peligros, tengamos validados y establecidos para eliminar *Listeria* antes de que un producto listo para el consumo quede expuesto a las condiciones ambientales de la industria y por tanto pueda re-contaminarse.

El Capítulo 1 del Anexo I del Reglamento (CE) nº 2073/2005, de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios, define criterios de seguridad alimentaria para 3 categorías de alimentos en relación con *Listeria monocytogenes* (tabla 1):

Tabla 1: Categoría de alimentos en relación con *Listeria monocytogenes*

Categoría de alimentos	Microorganismos	Plan de muestreo		Límite		Método analítico de referencia	Fase de la cadena en la que se aplica el criterio
		n	c	m	M		
1.1 Alimentos listos para el consumo que pueden favorecer el desarrollo de <i>L. monocytogenes</i> , que no sean destinados a los lactantes ni para usos médicos especiales	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g (5)		EN/ISO 11290-2	Productos comercializados durante su vida útil
		5	0	Ausencia en 25 g (7)		EN/ISO 1192-1	Antes de que el alimento haya dejado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria que lo ha producido
1.2 Alimentos listos para el consumo destinados a lactantes y alimentos listos para el consumo destinados a usos médicos especiales (4)	<i>Listeria monocytogenes</i>	10	0	Ausencia en 25 g		EN/ISO 11290-1	Productos comercializados durante su vida útil
1.3 Alimentos listos para el consumo que no pueden favorecer el desarrollo de <i>L. monocytogenes</i> , que no sean destinados a los lactantes ni para usos médicos especiales (4) (8)	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100 ufc/g		EN/ISO 11290-2	Productos comercializados durante su vida útil

El Reglamento contiene cuatro notas aclaratorias (4, 5, 7 y 8) respecto a dichos criterios que deben ser tenidas en cuenta a la hora de aplicarlos:

« (4) En circunstancias normales, no se exige realizar pruebas regulares con respecto a este criterio para los siguientes productos alimenticios listos para el consumo:

- Pan, galletas y productos similares.
- Aguas embotelladas o envasadas, bebidas refrescantes sin alcohol, cerveza, sidra, vino, bebidas espirituosas y productos similares.
- Azúcar, miel y golosinas, incluidos productos de cacao y chocolate.
- Moluscos bivalvos vivos.
- Sal de cocina.
- Los que hayan recibido tratamiento térmico u otro proceso eficaz para eliminar *L. monocytogenes*, y cuando la recontaminación no sea posible tras este tratamiento (por ejemplo, productos tratados térmicamente en su envase final).
- Frutas y hortalizas frescas, enteras y no transformadas.

(5) Este criterio se aplica si el fabricante puede demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 ufc/g durante su vida útil. El explotador podrá fijar límites intermedios durante el proceso que deberían ser lo suficientemente bajos para garantizar que no se supere el límite de 100 ufc/g al final de la vida útil.

(7) Este criterio se aplica a los productos antes de que hayan abandonado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria, cuando este no pueda demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 ufc/g durante su vida útil.

(8) Se considera automáticamente que pertenecen a esta categoría los productos con $\text{pH} \leq 4,4$ o $a_w \leq 0,92$, productos con $\text{pH} \leq 5,0$ y $a_w \leq 0,94$, y los productos con una vida útil inferior a 5 días. Otras categorías de productos también pueden pertenecer a esta categoría, siempre que se justifique científicamente*.»

Programa de
control de
Listeria en
productos ALC

Tenemos siempre que tener en cuenta que ninguna acción o práctica única controlará la contaminación por *Lm* de los alimentos. En cambio, hay muchos pasos que los operadores y sus proveedores pueden llevar a cabo para ayudar a reducir el riesgo de listeriosis.

Un buen programa de control de *Listeria* debe incluir tres apartados:

1. Toma de muestras.

2. Formación.

3. Programa de higienización:

- Procedimientos de limpieza y desinfección pre operativos.
- Procedimientos de limpieza y desinfección operacionales.
- Control de temperatura y de equipos de tratamiento de aire.
- Diseño de equipos.
- Control de movimientos (flujos).
- Higiene y prácticas higiénicas de los trabajadores.
- Control de la contaminación cruzada.
- Limpieza y desinfección durante la construcción, reparaciones y tareas de mantenimiento.
- Limpieza y desinfección intensificadas en respuesta a los positivos.
- Determinación de la efectividad del programa de limpieza y desinfección.

1. Programa de Toma de muestras

1. Programa de Toma de muestras

Como parte de un Programa de Control de *Listeria*, se espera que los establecimientos tengan programas de muestreo tanto rutinarios como extraordinarios.

El programa de muestreo rutinario debe incluir todos los procedimientos que el establecimiento seguirá para tomar muestras de manera rutinaria.

El establecimiento debe:

- identificar los sitios donde tomarán las muestras,
- la frecuencia de muestreo,
- el número de muestras que tomará,
- el tamaño de los sitios de muestreo,
- el método de muestreo, y
- los procedimientos para tomar muestras de superficie de contacto con alimentos, ambientales y de producto. Los establecimientos que tienen varios turnos de trabajo y producen ALC deben prever la posibilidad de tomar muestras en todos los turnos.

1.1 Muestreo de superficie de contacto con alimentos

Se requiere que los establecimientos tomen muestras de superficie de contacto con alimentos y ambientales en el entorno de procesamiento posterior a la letalidad para garantizar que las superficies estén higienizadas adecuadamente y libres de *Lm* o de un organismo indicador.

También se requiere que los establecimientos identifiquen el tamaño y la localización de los sitios de muestreo.

La expectativa para los establecimientos es que identifiquen todas las posibles superficies de contacto con alimentos en el área de procesamiento posterior a la letalidad. Esto incluye superficies que pueden entrar en contacto con los alimentos de manera regular, así como aquellas que pueden entrar en contacto de manera intermitente. Esto significa que el establecimiento debe identificar todos los objetos que toca el producto (por ejemplo, descortezadoras

picadoras, embutidoras, cuchillos, loncheadoras, mesas, tajos y guantes y otros equipamientos y utensilios, así como el material de envasado).

Esto ayudará al establecimiento a identificar todas las áreas que podrían albergar patógenos bacterianos como *Lm*.

“**NOTA:** No sería suficiente para los establecimientos tomar muestras de productos en lugar de muestras de superficie en contacto con alimentos para cumplir con los requisitos del Reglamento (CE) n° 2073/2005. El Reglamento requiere que “los explotadores de las empresas alimentarias que produzcan alimentos listos para el consumo susceptibles de plantear un riesgo de *Listeria monocytogenes* para la Salud Pública, deberán tomar siempre muestras de las zonas y el equipo de producción, como parte de su plan de muestreo, con el fin de detectar la posible presencia de dicha bacteria.” (Art. 5 punto 2 Reglamento (CE) n° 2073/2005).”

Los establecimientos deben diseñar sus programas de muestreo para que recopilen una combinación de muestras aleatorias y dirigidas. Inicialmente, las muestras deben tomarse al azar, para garantizar que todas las superficies de contacto tengan la misma probabilidad de ser muestreadas. El muestreo aleatorio debe realizarse después de que un establecimiento haya comenzado la producción o comience a procesar un nuevo producto para verificar que su sistema es efectivo. El establecimiento debe tener planes establecidos para que se tomen muestras representativas de todas las superficies de contacto con alimentos durante un período de tiempo determinado.

Una vez que el establecimiento ha generado datos que demuestran que su sistema de control es efectivo, el establecimiento deberá adoptar un

programa de muestreo más basado en el riesgo. El muestreo basado en el riesgo debe también incluir muestras dirigidas que se toman junto con las muestras aleatorias. Estas muestras se pueden tomar a discreción en función de los resultados positivos u otras condiciones observadas en el establecimiento.

Por ejemplo, si el establecimiento está tomando 3-5 muestras por línea como parte del programa de muestreo de rutina, 1-2 de las muestras, deben ser dirigidas, mientras que las demás deben tomarse al azar. **Se deben siempre tomar muestras dirigidas** si se observan condiciones que podrían conducir a la contaminación cruzada en el entorno posterior al procesamiento (por ejemplo, desagües atascados, problemas de saneamiento y goteo de condensación sobre el equipo).

Los establecimientos también deberían aumentar la frecuencia de la toma de muestras, en áreas donde se han identificado problemas de saneamiento, y utilizar los resultados de sus pruebas de vigilancia de limpieza y desinfección (por ejemplo, placas de recuento de aeróbios (APC) o bioluminiscencia) para identificar los sitios de muestreo. También se pueden tomar muestras dirigidas para demostrar la efectividad de las acciones correctivas llevadas a cabo por el establecimiento.

Si se encuentran muestras positivas, el establecimiento debe tomar medidas correctivas y tomar muestras de seguimiento de acuerdo a sus procedimientos. Además, el establecimiento debe anotar los sitios en los que se ha realizado el muestreo dirigido o de rutina, para garantizar que se haya valorado la posible contaminación.

En la siguiente tabla se proporciona una lista de superficies que se deben muestrear (tabla 2).

Tabla 2. Superficies que se deben muestrear

DEBE tomar muestras de	NO debe tomar muestras de
Áreas húmedas/húmedas con agua estancada.	Áreas secas y limpias.
Superficies de contacto directo con alimentos. Suelos y áreas relacionadas.	Empleados: zapatos, manos, etc. Lavamanos
Vados sanitarios para el calzado: si no se mantiene el desinfectante, esta puede ser una buena fuente de refugio y punto de transferencia a otras áreas de la instalación.	Materiales de envasado: frascos, tapas, etc..., si van a someterse a tratamiento listericida.
Equipo de limpieza: equipo automático de limpieza de suelos, escobas, fregonas, contenedores de desechos, especialmente la parte inferior, etc.	Producto agrícola crudo, o cualquier superficie de contacto con alimentos que se use exclusivamente para alimentos crudos.
Ventilación: líneas de aire a presión, mangueras de aire, condensado de líneas de aire a presión, evaporadores y bandejas de condensado de los evaporadores.	Techo, almacenes, pasillos, etc.
Cintas de transporte de productos: cables, correas, juntas, donde se acumulan residuos del producto, cojinetes y rodillos de material absorbente.	Zona 4*: áreas de las instalaciones no dedicadas a la producción, como pasillos, talleres de mantenimiento y áreas de descanso de los empleados.
Equipo: áreas de difícil acceso y limpieza, superficies sin contacto con alimentos, rincones y grietas.	
Cubiertas de motores y paneles eléctricos (que no se limpian ni desinfectan).	
Equipo agrietado, juntas metálicas, etc.	
Debajo de los fregaderos y debajo de los lavamanos si aparecen fugas, grietas, etc.	
Puertas: área que conduce directamente a las áreas de producción	
Drenajes, sumideros	
Fábricas de hielo	
Techos y paredes en áreas de producción, refrigeradores y congeladores	
Juntas de puertas para refrigeradores y congeladores	

Environmental Sampling for Detection of *Listeria monocytogenes*, CFSAN Guidance Draft Guidance.

*Ver zonificación higiénica en Anexos

1.2 Frecuencia de muestreo

Los establecimientos han de indicar la frecuencia de la toma de muestras y justificar el por qué esta frecuencia, es suficiente para mantener el control de *Lm* o de un organismo indicador.

La frecuencia de muestreo debe basarse en los siguientes criterios:

- a) Tamaño o volumen del establecimiento (grande, pequeño, muy pequeño).
 - b) Si el establecimiento produce o no productos que pueden favorecer o no el crecimiento de *Lm*.
 - c) Histórico y patrones de contaminación observados.
 - d) El tipo de producto, la frecuencia con la que se produce el producto, el volumen de producción, el flujo del producto, los patrones de movimiento, la antigüedad de la instalación de procesamiento y si el producto crudo se produce en la misma sala que los productos listos para el consumo (o se produce con el mismo equipo en que se procesan productos no ALC, como amasadoras, picadoras...).
- Las frecuencias de muestreo deben aumentarse, o deben añadirse muestras intensificadas adicionales, en función de un cambio en el riesgo que incluya lo siguiente:
- a) Actividades de construcción o reparación,
 - b) Cambio en el plan APPCC o adición de un nuevo plan APPCC,
 - c) Adición de un nuevo ingrediente o producto,
 - d) Goteras en el techo, condensación, averías del equipo u otros sucesos que podrían cambiar o aumentar la probabilidad de contaminación del producto.
 - e) Incremento de los positivos en el muestreo de rutina, o
 - f) Un mayor incremento en el recuento de placas de aeróbicas o recuentos de bioluminiscencia (ATP) que indican problemas de limpieza y desinfección.

1.3 Toma de muestras y métodos de análisis de laboratorio

El muestreo utilizando una técnica adecuada, es importante para garantizar que recuentos bajos de *Lm* o *Listeria spp.*, se detecten en el entorno de procesamiento posterior a la letalidad. También es importante que los resultados sean precisos y fiables, de modo que puedan usarse para respaldar, en caso de que así sea, la decisión tomada por un establecimiento de que no es razonable que esté presente *Lm* en su producto tras realizar el análisis de peligros.

El establecimiento debe tener documentadas instrucciones escritas para tomar las muestras de superficies de contacto con alimentos, ambientales (entendiendo bajo el término ambientales las superficies que no están en contacto con el producto) y de producto.

El muestreo debe realizarlo una persona capacitada en toma de muestras con técnicas asépticas y las muestras deben tomarse con hisopos estériles u otros dispositivos de muestreo adecuados.

Se recomienda seguir la norma ISO 18593 o equivalente. La metodología podría ser la siguiente según el dispositivo utilizado:

- Utilización de una toallita húmeda que contacta totalmente por ambos lados (importante para duplicar la superficie de contacto) 10 veces en sentido horizontal y 10 veces en el vertical por cada uno de los lados.

Después de tomar la muestra introducir la toalla en una bolsa o frasco estéril, identificarlo y cambiar de guantes para tomar la siguiente muestra. Es recomendable, si se va a utilizar la ISO 11290-1 sobre detección de *Listeria monocytogenes*, llevar un matraz de "caldo Fraser" a media concentración e introducir la toallita dentro del caldo

directamente para favorecer la recuperación de las bacterias lesionadas o estresadas desde el mismo momento de la toma de muestras. La pre incubación para recuperar las bacterias dañadas sería igualmente conveniente. Las consideraciones hechas para este método sobre número de pases y actuaciones posteriores son válidas para el resto de equipos.

- Si se utiliza la esponja abrasiva es conveniente que esté pre humedecida y el método será exactamente el mismo. Lo único que varía es que se trata de un equipo de muestreo menos flexible y con

menor superficie de contacto que la toallita y como ventaja presenta mayor capacidad de fricción.

- Sobre el hisopo, su uso puede estar indicado en zonas no accesibles por otro método, pero su fragilidad, limita la fricción y por su pequeño tamaño, implica una menor superficie de contacto.
- Existen rodillos a los que se incorpora una camisa de gasa estéril que se desprende del equipo una vez tomada la muestra. Permiten presionar y friccionar constituyendo otro buen método, aunque conlleva una mayor manipulación y por tanto posibilidades de contaminación no deseables.

Cuándo tomar las muestras:

Algunas muestras pueden tomarse antes de comenzar el proceso productivo, para evaluar la eficacia de los procedimientos de limpieza y desinfección previos, pero la mayoría de las muestras deben tomarse al menos 3 horas después de que se inicien las operaciones, si es posible, para permitir que *Lm* "salga del nicho".

Integridad de la muestra:

Las muestras deben almacenarse refrigeradas antes del análisis. Las muestras deben etiquetarse adecuadamente para evitar confusiones con respecto a los resultados de las pruebas.

Muestreo de salmuera y salsas:

Algunos establecimientos usan salmuera y/o salsas para enfriar o inyectar o rociar el producto listo para el consumo. Dependiendo de si la superficie del producto terminado está directamente expuesta a éstas después del paso de letalidad, las soluciones de salmuera y/o salsas podrían considerarse como muestras de contacto con alimentos o de no contacto (ambientales). Si estas soluciones y/o salsas entran en contacto directo con el producto después del tratamiento listericida, tendrán de ser sometidas a un tratamiento que garantice que no van a constituir una fuente de contaminación.

Muestra de composición:

Los establecimientos pueden optar por componer muestras de superficie de contacto con alimentos y ambientales para disminuir costes. Aunque la composición de muestras es permisible, los establecimientos deben ser conscientes de que se produce una pérdida de información cuando se componen las muestras.

Por ejemplo, si una muestra compuesta da positivo, el establecimiento ya no sabrá qué sitio en particular dio positivo y ha de tomar medidas correctivas en todos los sitios representados por la muestra compuesta. Por lo tanto, se recomienda que los establecimientos tomen muestras de áreas similares (por ejemplo, desagües en una sala de procesamiento) en un conjunto de muestras compuestas. Igualmente, todas las muestras en un grupo compuesto podrían ser de la misma línea de producción. En ambos casos, un resultado positivo indicaría contaminación en un área en particular, y los establecimientos podrían adaptar sus acciones correctivas en consecuencia.

Si toman muestras compuestas, se recomienda que no estén compuestas de más de 5 muestras y que

se usen esponjas separadas (u otro dispositivo de muestreo) para tomar cada muestra, para evitar una posible contaminación cruzada.

Se deben tener en cuenta las ubicaciones individuales de la muestra compuesta para ayudar a determinar el sitio de contaminación en caso de positivo y así facilitar las pruebas de seguimiento. Si una muestra compuesta da positivo, el establecimiento debe considerar todos los sitios representados por la muestra como positivos y tomar las medidas correctivas correspondientes.

Durante el muestreo de seguimiento se deben volver a muestrear individualmente cada uno de los sitios, además de tomar muestras adicionales en el área.

Manejo y envío de muestras:

Si las muestras van a analizarse por un laboratorio interno, las pruebas deben iniciarse inmediatamente después de la toma. Las muestras se transportarán refrigeradas en un envase isoterma. El análisis de las muestras se realizará lo más rápido posible y nunca deben transcurrir más de 24-36 horas desde la toma de la misma. La hora de la toma de muestras se refleja en la ficha del laboratorio así como la hora de la recepción y la hora del comienzo del análisis.

Los análisis para la investigación de *Listeria monocytogenes* se realizarán de acuerdo a la Norma ISO 11290-1 o métodos que hayan sido convenientemente validados, de acuerdo al artículo 5 del Reglamento (CE) n° 2073/2005. Los laboratorios asignados por las autoridades competentes para llevar a cabo el control oficial, estarán acreditados conforme a la Norma ISO 17025.

Métodos de análisis:

Los establecimientos pueden realizar analíticas de *Lm* y *Listeria spp.*, porque está estrechamente relacionado con *Lm*. En muchos casos, las pruebas de laboratorio para *Listeria spp.*, son las mismas pruebas iniciales que se utilizan para detectar *Lm*. Tal y como establece el Reglamento (CE) n° 2073/2005: "La realización de pruebas basadas en microorganismos alternativos y los límites microbiológicos relativos, así como las pruebas de analitos que no sean microbiológicos, sólo se permitirán para los criterios de higiene del proceso" (Art 5).

Si la prueba se realiza en un laboratorio externo, el establecimiento debe conocer el método utilizado por el laboratorio, para saber si cumple con lo establecido en el Reglamento para los métodos de análisis.

Las siguientes son recomendaciones para los métodos de análisis:

1) Como norma, se utiliza un **paso de enriquecimiento** para permitir la recuperación de organismos lesionados y el crecimiento de *Listeria* a niveles que pueden ser detectados por la mayoría de los métodos de prueba. Muchos métodos de prueba comúnmente utilizados no pueden detectar niveles por debajo de 10 ufc/g. Por lo tanto, es importante que el paso de enriquecimiento se diseñe para permitir detectar niveles bajos de recuentos que pueden estar presentes en la muestra. También es importante permitir que los microorganismos “lesionados” se recuperen, para que puedan ser detectados por el método de prueba. En la mayoría de los casos, se necesita al menos un enriquecimiento de 8 horas para lograr niveles adecuados de crecimiento de *Lm* para su detección. Un paso de reanimación de una hora no es un paso de enriquecimiento y probablemente no sea suficiente para detectar niveles bajos de *Listeria* spp., o *Lm*.

2) **Se analiza toda la esponja o dispositivo de muestreo.** Algunos métodos implican probar solo una pequeña parte del caldo u otro diluyente utilizado para hidratar la esponja o el dispositivo de muestreo.

Los estudios han demostrado que es probable que las bacterias queden atrapadas en el interior de la esponja u otro dispositivo de muestreo. Por lo tanto, se sugiere que se incluya toda la esponja o dispositivo de muestreo en el paso de enriquecimiento. Analizar todo el dispositivo de muestreo ayudará a garantizar que se detecten los microorganismos presentes.

3) **El método ha sido validado.** Todos los métodos de detección deben ser validados por un organismo independiente reconocido (por ejemplo, Association of Official Agricultural Chemists (AOAC), EN ISO 16140). Los análisis para la investigación de *Listeria monocytogenes* se realizarán de acuerdo a la Norma ISO 11290-1 o métodos que hayan sido convenientemente validados, de acuerdo al artículo 5 del Reglamento (CE) n° 2073/2005. Los laboratorios asignados por las autoridades competentes para llevar a cabo el control oficial estarán acreditados conforme a la Norma ISO 17025.

Prueba de superficies indirectas, sin contacto con alimentos

Los establecimientos pueden analizar muestras indirectas (ambientales) como parte de su Programa de Control de Listeria. Muestrear estas áreas, puede suponer para el establecimiento encontrar lugares de refugio de *Lm*.

Los establecimientos pueden establecer su propia frecuencia para el muestreo de superficies indirectas, sin contacto con alimentos, en función de su cronograma de procesamiento o el historial de resultados positivos. Es importante que los establecimientos realicen pruebas de seguimiento en respuesta a muestras indirectas positivas (por ejemplo, mediante limpieza y desinfección) para garantizar que no se produzca el refugio y la contaminación cruzada del producto.

Pruebas de producto

Las pruebas de producto se pueden usar como una verificación de la efectividad de los tratamientos post letalidad, y de los Planes de control de *Lm* de los establecimientos.

Los establecimientos establecerán su propia frecuencia para las pruebas de producto, según el cronograma de procesamiento del establecimiento o el historial de resultados positivos.

Si un producto da positivo para *Listeria* spp., el establecimiento debe poder acreditar la siguiente documentación para demostrar que el producto no es positivo para *Lm*:

- Un plan de muestreo que proporcione un nivel de confianza estadística de que cada producto que elabora no está contaminado con *Lm*, o
- Datos de prueba que demuestran que el producto original no es positivo para *Lm*,
- Documentación que demuestra que el producto ha sido reprocesado utilizando un proceso validado para lograr al menos una reducción de 5 de log de *Lm*. Tener siempre en cuenta con respecto a los reprocesamientos, lo que establece el Reglamento (CE) n° 2073/2005: "El explotador de empresa alimentaria podrá utilizar el lote para fines distintos a los previstos originalmente, siempre que este uso no plantee un riesgo para la salud pública o la salud animal y el uso se haya decidido dentro de los procedimientos basados en los principios APPCC y en las prácticas de higiene correctas y esté autorizado por la autoridad competente".

El hallazgo de *Listeria* spp. en el producto puede indicar condiciones insalubres donde el producto podría contaminarse con *Lm*. Por lo tanto, el establecimiento debe revisar sus planes de limpieza y desinfección y el plan APPCC para garantizar que *Lm* se controla en su entorno y que es poco probable que ocurra una contaminación cruzada del producto.

Registro de resultados de muestreos

Los establecimientos han de mantener registros de los resultados de muestreo de superficies en contacto, ambientales y de producto.

Los registros deben incluir lo siguiente:

- 1) Fecha de toma de muestra y análisis de muestras,
- 2) Resultado de la prueba (positivo o negativo),
- 3) Análisis que se realizó (*Lm* o *Listeria* spp.),
- 4) Método de prueba (número AOAC o nombre del método, ISO etc),
- 5) Laboratorio que realizó el análisis,
- 6) Sitio de muestreo o tipo de producto analizado.

En respuesta a un resultado positivo se deben realizar acciones correctivas y muestreos de seguimiento. Si los resultados positivos son en una superficie de contacto, entonces los productos deben retenerse y ser analizados utilizando un plan de muestreo que garantice que los productos no tienen *Lm* antes de su liberación al comercio.

El establecimiento debe incluir una descripción de las acciones correctivas y preventivas que se tomarán en respuesta a resultados positivos y realizar muestreos de seguimiento.

Se recomienda que se tomen 3-5 muestras de la superficie de contacto positiva original y del área circundante, para garantizar la efectividad de las acciones correctivas. Estas pueden incluir otras superficies de contacto con alimentos que están próximas del positivo original. Hay que registrar la justificación que se hace, para seleccionar los sitios de muestreo de seguimiento. Por ejemplo, si una cortadora da positivo, el establecimiento puede optar por muestrear la cinta transportadora u otro equipo que conduzca a la cortadora.

Tras un segundo positivo en una superficie de contacto se recomienda realizar un *muestreo intensificado*.

El modo de muestreo intensificado incluye:

- Muestras intensificadas tomadas en superficies de contacto, ambientales y productos, y
- Limpieza y desinfección intensificados.

El muestreo intensificado que puede incluir la toma de muestras de superficies en contacto, ambientales y de producto, se realiza para encontrar fuentes de refugio y de contaminación cruzada, en el entorno de procesamiento posterior a la letalidad. El refugio se define como la persistencia de *Lm* en el establecimiento a lo largo del tiempo. Una vez que se forma un lugar de refugio, *Lm* puede transferirse por contaminación cruzada a las superficies de contacto o al producto.

Durante el muestreo intensificado, se deberían tomar al menos 3-5 muestras de cada sitio que resultaron positivas durante el muestreo de seguimiento. También se deben realizar esfuerzos para localizar las fuentes de refugio, rastrear la contaminación cruzada en el establecimiento y encontrar y evaluar las tendencias de *Listeria*.

Junto a este muestreo intensificado hay que incrementar los programas de limpieza y desinfección. Los programas de limpieza y desinfección intensificados pueden incluir aumentar la frecuencia de limpieza y desinfección de ciertos equipos, desmontar el equipo para una mejor limpieza, la reparación o reemplazo de equipos rotos, etc.

El establecimiento finalmente debe emprender acciones preventivas como:

- Aumentar los muestreos rutinarios para *Listeria*,
- Tomar muestras intensificadas para encontrar fuentes de refugio y contaminación cruzada,
- Retener y muestrear el producto,
- Reevaluar el Plan general de higiene para determinar si los problemas de limpieza y desinfección podrían estar conduciendo a resultados positivos,
- Evaluar la efectividad de su tratamiento post letalidad,
- Analizar tendencias y,
- Reanalizar el plan APPCC.

* En el Anexo 4 se incluyen los principios básicos para la Zonificación higiénica y Monitoreo ambiental.

Retención y análisis

Los establecimientos tras un positivo para *Lm* o un organismo indicador en una superficie de contacto, deben retener el producto hasta que el establecimiento corrija el problema. Además, para poder liberar el producto al comercio, el establecimiento debe analizar los lotes utilizando un método de muestreo que proporcione un nivel de confianza estadística suficiente de que el producto no está contaminado. Consecuentemente, el establecimiento podrá decidir si reelaborar o destruir el producto.

Los establecimientos deben mantener todo el lote del producto (y los lotes de los días siguientes y del día anterior) retenidos, hasta que se recupere el control. El control por ejemplo se considera recuperado después de varios muestreos consecutivos con resultados negativos en superficies en contacto, y además todas las muestras de ambiental y de productos son negativas.

Lote de producción

Como se indicó anteriormente, los establecimientos deben mantener el control de los productos listos para el consumo que han dado positivo para *Lm* o productos listos para el consumo que han estado en contacto con superficies en contacto directo que han dado positivo a *Lm*. Los establecimientos pueden identificar, segregar y retener dichos productos siempre que mantengan el control sobre ellos.

Un lote de producción se define típicamente (a efectos de esta guía) como todo producto producido desde la limpieza hasta la siguiente limpieza, a menos que el establecimiento realice un tamaño de lote más pequeño. Si el establecimiento realiza una limpieza y desinfección completa (siguiendo los procedimientos de su Plan de limpieza y desinfección) entre lotes, el tamaño del lote podría reducirse. Los factores que deben tenerse en cuenta al determinar el tamaño del lote incluyen las materias primas utilizadas, que pueden ser listas para el consumo,

la frecuencia de limpieza y desinfección, y los pasos en el procesamiento.

Los productos producidos en una misma área, podrían considerarse parte de los mismos o de diferentes lotes de procesamiento, dependiendo de cómo se separen dichos lotes. Si las líneas de procesamiento pueden considerarse microbiológica y físicamente independientes entre sí (es decir, el equipo, el personal, los utensilios y las materias primas listas para el consumo no se comparten entre las líneas), entonces pueden considerarse lotes diferentes.

Un ejemplo de un ingrediente listo para el consumo común podría ser el pollo, que se toma del mismo paquete para añadir a una ensalada de pollo y se añade en varios lotes. Si una superficie de contacto directo da positivo en una línea, y el establecimiento tiene documentación que respalda que no hay contaminación cruzada entre las líneas, entonces los lotes producidos en las otras líneas pueden no estar implicados.

Del mismo modo, los productos producidos en la misma línea podrían considerarse diferentes lotes de procesamiento, si están separados por una limpieza y desinfección completa y eficaz, así como por los otros factores descritos anteriormente.

Análisis de tendencias de *Listeria*

Una forma en que los establecimientos pueden garantizar que sus acciones correctivas son efectivas es realizar un seguimiento de los resultados de los muestreos.

Los resultados positivos sobre superficies de contacto o ambientales, a *Listeria* spp., indican tendencias positivas de *Lm* en el establecimiento. El hallazgo de tendencias ascendentes de *Listeria* podría indicar que el Programa de control de *Listeria* del establecimiento no es efectivo para controlar la presencia de *Lm* en el entorno de procesamiento posterior a la fase de letalidad.

En respuesta a un análisis de tendencias ascendente de *Listeria*, el establecimiento debe realizar muestreos intensivos, intensificar los programas de limpieza y desinfección, y llevar a cabo una investigación exhaustiva para determinar la fuente y la causa de la contaminación.

¿Cómo identificar y abordar las tendencias de *Listeria*?

Los establecimientos deben analizar los resultados de los muestreos a lo largo del tiempo, para identificar tendencias ascendentes de *Listeria*. Las tendencias ascendentes de *Listeria* pueden consistir en aumentos de muestras positivas durante un período de tiempo particular (por ejemplo, semanal, quincenal, mensual, trimestral o 6 meses) o aumentos de positivos en sitios o áreas particulares.

Al analizar los resultados porcentuales de muestreo positivos, los establecimientos pueden determinar si el porcentaje de positivos en el establecimiento está aumentando, lo que indica que se deben hacer cambios en sus programas de limpieza y desinfección, aumentar la frecuencia de los muestreos o en ocasiones puede requerir medidas extremas como reparaciones o reemplazo de equipos y reevaluar el plan APPCC.

Es importante que los establecimientos gestionen sus resultados para poder evaluar posibles puntos de refugio.

Finalmente con el tiempo, los resultados positivos en el producto para *Listeria* spp., o *Lm* también podría indicar una tendencia ascendente de *Listeria*.

Investigación

En respuesta a hallazgos de tendencias ascendentes de *Listeria*, los establecimientos deben realizar una investigación exhaustiva, que incluirá:

- a) Revisar los procedimientos de limpieza y desinfección, incluidos los tipos de productos de limpieza.
- b) Revisar los diagramas de flujo, el diseño del equipo y el cumplimiento de los procedimientos de higiene de los empleados.
- c) Localizar posibles nichos que puedan representar un refugio (los positivos repetidos y no consecutivos generalmente indican la presencia de un nicho o sitio de refugio para *Lm*).
- d) Intensificar las muestras en el sitio que dio positivo, incluidos los equipos individuales con el fin de localizar la fuente de contaminación.

Análisis de riesgos para *Listeria monocytogenes*

En base a los resultados del estudio publicado por FSIS (FSIS *Listeria Risk Assessment* 2003), tenga siempre presente las siguientes conclusiones:

- Las superficies de contacto con alimentos que resultaron positivas para *Listeria* spp., aumentaron en gran medida la probabilidad de encontrar lotes de productos ALC positivos para *L. monocytogenes*.
- La frecuencia de contaminación de las superficies en contacto con alimentos con especies de *Listeria* abarca un amplio período de tiempo, y la duración de un evento de contaminación dura aproximadamente una semana.
- Se estima que el aumento de la frecuencia de las muestras de superficie de contacto con alimentos y la limpieza y desinfección conducen a un riesgo proporcionalmente menor de listeriosis.
- Las **combinaciones de acciones** (p. ej., muestreos y limpieza y desinfección de superficies en contacto con alimentos antes del envasado y el uso de inhibidores del crecimiento/reformulación del producto...) **parecen ser mucho más efectivas que cualquier acción individual** para mitigar la posible contaminación de ALC con *L. monocytogenes*.

2. Formación

2. Formación

Un programa de formación documentado y completamente implementado es crítico para el éxito de cualquier programa de seguridad alimentaria diseñado para controlar *Listeria*. Un Programa de control de *Listeria*, que incluye la implementación del plan APPCC y de los Procedimientos higiénicos (PGH), solo será efectivo si los empleados conocen y entienden el programa, su función y son capaces de realizar las tareas que se les exigen en el programa. Esto se aplica tanto a los empleados nuevos como a los existentes y a todos los que participan

en todas las etapas de producción, desde la limpieza y desinfección hasta la manipulación de alimentos y el mantenimiento de los registros.

El programa de formación de *Listeria* de un establecimiento debe incluir un programa de capacitación amplio y básico para todos los empleados, independientemente de sus tareas laborales, así como programas de capacitación más especializados para los empleados que manipulan los productos y el personal involucrado en la limpieza y desinfección.

Programas de formación recomendados

Las políticas específicas de toda la compañía que afectan el control de *Listeria* deben discutirse en un curso de formación básica, como por ejemplo las reglas que requieren el uso de delantales protectores de cierto color en ciertas áreas del establecimiento o las reglas sobre los patrones de flujo en la planta. Adaptar su programa de formación a su establecimiento, sus productos y sus necesidades, es crucial.

A. Lavado de manos

Todo el personal debe recibir instrucciones sobre cuales son las técnicas adecuadas para lavarse las manos.

Adopte una política descriptiva de lavado de manos y muestre instrucciones claras en todos los baños y en todos los lavabos.

Las instrucciones por ejemplo, pueden ser para un lavado de manos de al menos 20 segundos. Una política exhaustiva de lavado de manos también debe incluir instrucciones sobre cuándo deben lavarse las manos los empleados, como por ejemplo:

- Antes de comenzar a trabajar o cuando llegue por primera vez al sitio de trabajo.
- Después de los descansos.
- Después de usar el baño.
- Después de manipular la basura.
- Después de manipular productos alimenticios crudos.
- Después de contestar el teléfono, manejar dinero o tocar otros artículos sucios.
- Después de comer, beber o usar productos de tabaco.
- Después de toser, estornudar o usar un pañuelo o pañuelo de papel.
- Después de tocarse la cara, cabello, nariz u orejas.
- Después de manipular equipos sucios.
- Antes de manipular alimentos listos para el consumo.
- Antes de ponerse los guantes.
- Cada vez que cambia de tarea.

B. Contaminación cruzada

Aunque un curso básico de formación general sobre *Listeria* para todos los empleados, puede abordar los principios de contaminación cruzada, **debe abordarse un curso de formación más enfocado en contaminación cruzada por *Listeria***, dirigido a los trabajadores que manipulan el producto.

Además hay que alentar a todos los empleados a ser conscientes de que identificar posibles sitios de refugio puede limitar la pérdida de productos y reducir el riesgo. Los principales temas a tratar dentro de este curso deben incluir la importancia de mantener separados los productos listos para el consumo y los crudos, desde la recepción hasta el almacenamiento, incluida la preparación de los alimentos, el envasado y el almacenamiento. Deben tratarse las prácticas generales de higiene, incluidos los requisitos

específicos para la ropa exterior, guantes y calzado. La formación también debe incluir prácticas comunes que pueden provocar la contaminación cruzada, como por ejemplo un empleado que estornuda en las manos y no se lava inmediatamente después. El mensaje principal para la formación sobre contaminación cruzada es que los empleados deben ser siempre conscientes, de cómo sus acciones pueden afectar a la seguridad alimentaria.

C. Limpieza y desinfección

Al igual que la importancia de una buena limpieza y desinfección no puede obviarse, también es importante un programa de formación a los empleados, que aborde como es una limpieza y desinfección adecuada.

A los empleados no solo se les debe mostrar cómo hacer su trabajo, sino que deben entender por qué limpian y desinfectan los equipos y utensilios y la importancia de limpiar las superficies que no están en contacto con los alimentos, así como las implicaciones para la salud pública de la limpieza y desinfección inadecuadas. Además de los principios básicos de limpieza y desinfección, también se debe discutir la importancia de seguir siempre las instrucciones en cuanto a la concentración y temperatura adecuadas

al preparar los productos químicos, y la importancia de limpiar antes de desinfectar. Los empleados necesitan saber específicamente qué utensilios y productos tienen para limpiar y desinfectar cada uno de los equipos, con especial énfasis en los sitios de refugio conocidos. El programa de capacitación en limpieza y desinfección también debe incluir la importancia de desmontar el equipo por completo durante la limpieza, así como instrucciones sobre la frecuencia de limpieza y desinfección.

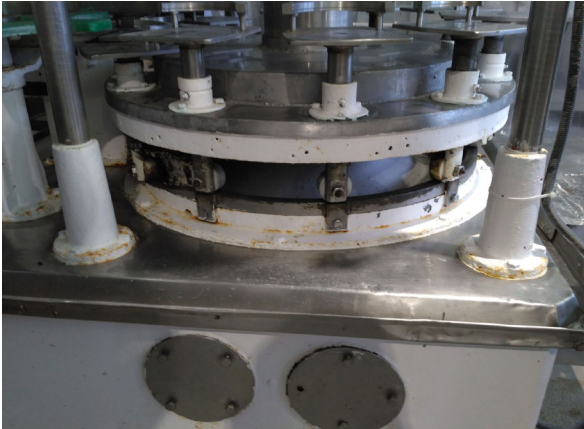
* En el Anexo 3 se incluyen “Principios básicos de Limpieza y Desinfección”

D. Mantenimiento de equipo

El personal que use equipos y utensilios en producción, o de limpieza y desinfección, o que participe en el mantenimiento de equipos y utensilios debe ser consciente de la importancia de un examen exhaustivo de grietas, óxido o picaduras, que conlleven a superficies rugosas y deterioradas, que puedan convertirse en posibles sitios de refugio de *Listeria*.

El personal de mantenimiento también debe recibir formación que analice cuales son las prácticas inadecuadas más comunes, como por ejemplo el uso de cinta adhesiva para la reparación de equipos, lo cual puede ser una fuente de contaminación y un sitio de refugio para *Listeria* (foto 1).

Foto 1. Ejemplos de falta de mantenimiento en equipos



E. Muestreo

Cada programa de formación en control de *Listeria* debe incluir formación específica dirigida al personal involucrado en el programa de muestreo del establecimiento.

Los empleados deben estar completamente capacitados en el "cuándo", el "dónde" y el "cómo" tomar muestras, así como el "por qué". Por ejemplo, el empleado debe comprender que los hisopos ambientales que toma, pueden conducir a la identificación y eliminación de sitios de refugio.

También es crítico que cualquier empleado que tome muestras, esté capacitado en los procedimientos de técnicas asépticas de toma de muestras. Si es una empresa externa, la que realiza esta actividad, los responsables del establecimiento deben conocer la respuesta a las anteriores preguntas y esto debe estar documentado.

F. Instalaciones

El personal de mantenimiento de las instalaciones debe estar informado de que *Listeria* prospera en ambientes húmedos y que es importante que vigilen las goteras en los techos, goteos de evaporadores, agua estancada, fugas y condensaciones. Se debe instruir al personal sobre los procedimientos a seguir si observan problemas en las instalaciones que pueden provocar la presencia de humedad o de agua excesiva, como y a quién notificar y qué medidas tomar.

3. Programas de limpieza y desinfección

3. Programas de limpieza y desinfección

Comprender las características de crecimiento/supervivencia de los microorganismos es fundamental para el éxito del control del patógeno. *Lm* es más resistente al calor que la mayoría de los patógenos transmitidos por los alimentos. Puede sobrevivir a la congelación y el secado. *Lm* resiste altos niveles de sal, nitrito y ácido y puede crecer en productos envasados al vacío. Además y lo que es más importante, es un patógeno que puede crecer en un ambiente húmedo y fresco. Una vez que la bacteria se adhiere a una

superficie, puede formar una biopelícula ("biofilm") y establecer un nicho o sitio de refugio que puede volverse resistente a los procedimientos de limpieza rutinarios. Finalmente las bacterias pueden propagarse desde estos los nichos hasta las superficies en contacto y al producto.

Los componentes críticos de un programa de limpieza y desinfección efectivo para controlar *Lm*, se pueden dividir en las siguientes categorías principales:

- Procedimientos pre operativos de limpieza y desinfección que son efectivos para evitar que *Lm* forme nichos o sitios de refugio en el entorno de procesamiento.
- Procedimientos operativos de limpieza y desinfección para evitar la contaminación cruzada en el entorno de procesamiento de un producto listo para el consumo.
- Procedimientos intensivos de limpieza y desinfección en respuesta a resultados de muestreo positivos.
- Documentación y verificación de procedimientos de limpieza y desinfección.

Una higienización adecuada y efectiva, implica tanto la limpieza y la desinfección, como la verificación de que la limpieza y la desinfección fueron efectivas. Esto implica desarrollar e implementar Planes Generales de Limpieza y Desinfección documentados que tengan en cuenta:

Fuentes, refugio y control de la contaminación por *Lm*

Un programa de limpieza y desinfección eficaz debe evitar la contaminación de las superficies en contacto con alimentos y evitar la formación y el crecimiento de *Lm* en un refugio, especialmente en áreas donde el producto está expuesto al medio ambiente tras una fase de letalidad. Los sitios de refugio proporcionan un lugar ideal para que *Lm* se establezca y multiplique. Los factores que pueden afectar a la formación de nichos incluyen:

- diseño de equipos,
- actividades de reparaciones,
- condiciones operativas que mueven restos del producto a lugares difíciles de limpiar,
- limpiezas a mitad de turno, y
- características del producto que requieren un enjuague excesivo.

Ciertas cepas pueden establecerse en un entorno de procesamiento durante meses o años. *Lm* puede propagarse desde estos sitios y volver a contaminar los alimentos o las superficies de contacto entre el paso de letalidad y el de envasado.

Por lo tanto, los procedimientos de limpieza y desinfección deben dirigirse a los nichos o sitios de refugio dentro del entorno de procesamiento de un producto listo para el consumo.

Ejemplos de nichos o sitios de refugio de *Lm* en el entorno de procesamiento (foto 2):

- Drenajes, rodillos huecos en los transportadores, válvulas de cierre e interruptores, sellos de goma desgastados o agrietados alrededor de las puertas, bombas de vacío/presión de aire, varillas tubulares agrietadas en los equipos, filtros de aire, condensado en equipos de refrigeración, suelos, agua estancada, desagües abiertos, techos y tuberías suspendidas, rieles superiores y carros, paredes y puertas de frigoríficos, estanterías de frigoríficos, protectores de juntas, tiradores de puertas, calzado, fabricas de hielo, aislamiento (mojado o mohoso), carretillas y montacargas, aire comprimido, filtros de aire en línea, recipientes de basura, mangueras agrietadas, estructuras húmedas, oxidadas o huecas, paredes agrietadas, o cubiertas con paneles superficiales sellados inadecuadamente, herramientas de mantenimiento y limpieza, juntas estrechas entre piezas de metal a metal.
- Equipos de llenado o envasado, películas o material de envasado, soluciones (por ejemplo, salmueras y salsas) utilizadas para enfriar y/o aderezar alimentos.

- Peladoras, rebanadoras, trituradoras, licuadoras, enfriadores de salmuera, dosificadores de salsas, mechadoras, básculas u otro equipo utilizado después del calentamiento y antes del envasado, congeladores en espiral, transportadores.
- Contenedores, bañeras, vagones, bolsas u otros recipientes utilizados para contener el producto expuesto.

Foto 2. Ejemplos sitios de refugio de *Lm*



3.1 Procedimientos de limpieza y desinfección

Típicamente, una limpieza y desinfección efectiva se puede detallar en los siguientes nueve pasos:

- 1) Realice una limpieza en seco del equipo, suelos, cintas transportadoras y mesas para eliminar restos de producto y otros desechos sólidos. Algunos equipos, como las rebanadoras y cortadoras, requerirán el desmontaje para que las piezas puedan limpiarse a fondo.
- 2) Lave y enjuague el suelo.
- 3) Enjuague previo del equipo (enjuague en la misma dirección que el flujo del producto). Enjuague previamente con agua tibia o fría: menos de 60°C (el agua caliente puede coagular proteínas).
- 4) Equipo de limpieza, espuma y fregado. Utilice siempre al menos el tiempo mínimo de contacto para el detergente/espuma. Se debe proporcionar al personal que realiza la limpieza y desinfección formación sobre la ubicación de posibles nichos e instrucciones escritas sobre el método de limpieza.
- 5) Enjuague el equipo (enjuague en la misma dirección que el flujo del producto).
- 6) Inspeccione visualmente el equipo para identificar restos diminutos de residuos biológicos.
- 7) Desinfecte el suelo y después el equipo para evitar contaminarlo con los aerosoles de la limpieza del suelo. Se debe tener cuidado al usar mangueras de alta presión para limpiar el suelo para que no salpique agua sobre el equipo ya limpio. Utilice agua caliente, al menos 82°C, durante aproximadamente 10 segundos para desinfectar el equipo. Los desinfectantes (p. Ej., amonio cuaternario) pueden ser más efectivos que el vapor para el control de *Lm*.
- 8) Rote los desinfectantes periódicamente. La alternancia entre detergentes alcalinos y ácidos ayuda a evitar las biopelículas. Esto también ayuda a cambiar el pH para evitar la adaptación de las bacterias a un entorno particular. También se pueden usar equipos portátiles de limpieza de alta presión y temperatura (55°C) con una presión de 20-85kg /cm² y 6-16 litros/minuto).
- 9) Secado. La eliminación del exceso de humedad se puede hacer de manera más segura y eficiente mediante el secado al aire. Evite cualquier posible contaminación cruzada por aerosol o salpicadura si se utiliza un método que no sea el secado al aire. Ponga cuidado si usa secado mediante toallas, bayetas o papel, a fin de evitar que los mismos sirvan de vehículo de re contaminación o dispersión de *Listeria*.

Desinfectantes

La limpieza y desinfección son cruciales para cualquier programa de limpieza y desinfección efectivo. Una limpieza a fondo debe ir seguida de una desinfección.

Generalmente, el paso previo de **limpieza** consiste en eliminar todos los materiales de desecho y la suciedad, y con el paso siguiente de **desinfección** lo que se pretende es destruir todos los microorganismos. Se debe considerar cuidadosamente la selección de productos de limpieza y desinfección. Es importante utilizar soluciones que sean compatibles con los materiales del equipo, como acero inoxidable o plásticos, y soluciones que sean efectivas para destruir el tipo de bacteria comúnmente asociada con el tipo de

productos producidos en el establecimiento.

En lugar de depender de un único desinfectante, la rotación ayudará a prevenir el desarrollo de microorganismos resistentes a un desinfectante en particular. Todos los limpiadores y desinfectantes disponibles comercialmente deben tener, como mínimo, la siguiente información en la etiqueta y tener disponible una ficha técnica y de datos de seguridad que deben acompañar al producto:

Descripción del producto

- Instrucciones sobre cómo usar el producto (concentración, método de aplicación, tiempo de contacto, temperatura)
- Propiedades y composición
- Información de seguridad

La información adicional a veces incluye:

- Beneficios
- Declaraciones de garantía de calidad
- Efectividad contra *Listeria*.

Recomendaciones para los desinfectantes que desactivan *Lm* en biopelículas en cintas transportadoras de plástico y acero inoxidable:

- El cloro y los yodóforos no son efectivos para inactivar *Lm* en biopelículas en superficies de acero inoxidable.
- Los desinfectantes más efectivos son compuestos de amonio cuaternario ácidos (no neutros), ácido paracético y dióxido de cloro.
- Los menos efectivos son los desinfectantes mixtos de halógenos (yodóforos e hipocloritos o lejías) y aniónicos ácidos.

Limpeza y desinfección intensificados tras una muestra positiva de *Listeria*

Las siguientes son acciones que se pueden tomar durante una limpieza intensiva tras una muestra positiva de *Listeria*. No todos los pasos pueden ser necesarios para abordar la contaminación. Las acciones se deben escalar para abordar muestreos positivos consecutivos.

Si se detecta un positivo, considere:

- Limpiar y desinfectar a fondo los sitios donde se encontraron resultados positivos.
- Identificar todos los posibles sitios de refugio y vías de contaminación cruzada. Limpie y desinfecte los puntos de refugio y aborde la contaminación cruzada.
- Retirar partes del equipo y poner en remojo durante la noche en solución desinfectante.
- Aumentar la frecuencia de todos los procedimientos de limpieza y desinfección que no sean diarios (por ejemplo, paredes y techos).
- Limpiar a fondo las superficies donde se acumulan residuos del producto. Preste especial atención a los espacios, grietas, soldaduras rugosas y hendiduras en los equipos.

Si continúan ocurriendo positivos, considere:

- Desmontar equipos y remojo de piezas en amoníaco cuaternario durante toda la noche.
- Después de limpiar y desinfectar las piezas de los equipos más grandes, aplique por ejemplo calor a vapor a 72°C y mantenga durante 20-30 minutos.
- Empapar la habitación con una solución desinfectante.

- Reemplazar las herramientas oxidadas, deterioradas, por otras nuevas de superficie lisa (las herramientas y piezas de equipo oxidadas y deterioradas sirven como lugares de refugio ideales para que *Lm* crezca y se multiplique).

Si continúan ocurriendo positivos, considere:

- Identificar puntos de refugio en equipos, como congeladores, y reparar o reemplazar.
- Limpiar a fondo todas las áreas del establecimiento, incluidas las áreas de producto crudo y no letales, para abordar los posibles sitios de refugio que conducen a la contaminación de las áreas de producto listo para el consumo.
- Reparar o reemplazar techos con goteras, equipos rotos y agrietados, suelos, tuberías elevadas, cámaras frigoríficas, ventiladores, puertas y ventanas. Suspender las operaciones durante las reparaciones o reemplazos. Se recomienda muestrear el medio ambiente para detectar *Listeria* spp., una vez finalizadas las reparaciones.
- Construir nuevas separaciones físicas entre áreas de producto crudo y producto listo para el consumo. Si los desagües o los equipos de tratamiento de aire conducen a áreas de crudo o al exterior, considere cambiar la ruta.

Determinación de la efectividad del programa de limpieza y desinfección

Los establecimientos pueden verificar la efectividad de su programa de limpieza y desinfección a través de la vigilancia de la implementación de sus procedimientos pre operativos y operativos.

El nivel más básico de una verificación diaria ocurre dentro del ambiente post-letal, al vigilar la implementación efectiva de la limpieza/desinfección de las superficies en contacto con el producto y observar si se implementan procedimientos de higiene para prevenir la contaminación cruzada. Además, se requiere la observación de las prácticas de higiene de los empleados dentro del área de los productos listos para el consumo, para verificar el cumplimiento y prevenir la contaminación cruzada. También hay requisitos para el muestreo de *Lm* o de un organismo indicador para verificar la limpieza y desinfección.

Los métodos no reglamentarios para verificar la efectividad del Plan de limpieza y desinfección incluyen el uso de recuentos de aerobios totales en placa y la bioluminiscencia de ATP u otros que puedan cumplir el mismo objetivo. Es importante tener en cuenta que estos métodos no pueden usarse para reemplazar las pruebas realizadas para *Lm* o un organismo indicador.

Recuentos de aerobios totales en placa (APC)

La verificación visual combinada con el recuento total en placa puede determinar tanto la contaminación observable como el nivel de contaminación bacteriana.

Dado que los resultados de recuento total en placa están disponibles en aproximadamente 24 horas, y no se pueden obtener en el momento de la inspección, su valor radica en la medición del nivel de contaminación. El nivel de contaminación puede ayudar al establecimiento a determinar la fuente de contaminación por *Listeria* y la efectividad del Plan de limpieza y desinfección. Los establecimientos pueden usar los resultados de la vigilancia de recuento total en placa para indicar las áreas donde se deben realizar pruebas para *Listeria* spp.

Prueba de bioluminiscencia (ATP)

El uso de la prueba de hisopo de bioluminiscencia de adenosina trifosfato (ATP) en superficies de contacto con el producto listo para el consumo también puede ser una herramienta de medición para verificar las condiciones sanitarias. La mayoría de los restos de alimentos y todos los microorganismos son ricos en ATP y la detección de microorganismos a través del análisis de bioluminiscencia de ATP es un buen método para evaluar la efectividad de la limpieza y desinfección. Cuanto más ATP presente, mayor será la cantidad de luz bioluminiscencia emitida. Un microprocesador transforma los datos en una lectura digital para la pantalla del luminómetro y cuantifica la salida

de luz en una zona de 2 dígitos. El fabricante del producto especifica la zona "aceptable" e "inaceptable". La prueba ATP puede detectar contami-

nación que no es observable, es una prueba rápida y los resultados están disponibles inmediatamente antes del inicio de las operaciones.

* En el Anexo 3 se incluyen los Principios básicos de una buena Limpieza y Desinfección.

3.2 Control de temperatura y equipos de tratamiento

- Mantenga la temperatura en las áreas de procesamiento y en las salas de envasado como tenga indicado en el plan APPCC.
- Mantenga la temperatura fría (p. Ej. <12°C) en la sala de envasado para los productos listos para el consumo que se van a refrigerar o congelar, tal y como indique en el plan APPCC.
- Vigile las temperaturas tal como indique en el plan APPCC.
- Establezca un flujo de presión de aire positiva, desde la sala donde el producto listo para el consumo está expuesto hacia las áreas de trabajo con producto sin procesar.
- Limpie las unidades de enfriamiento y las unidades de tratamiento de aire con una frecuencia determinada en base al riesgo.
- **Aborde y corrija de inmediato los problemas de condensación por goteo y de agua estancada.** La producción de productos listos para el consumo debe detenerse durante reparaciones y acciones correctivas para estos problemas. El equipo y el área de procesamiento deben limpiarse y desinfectarse después de que todas las reparaciones y acciones correctivas hayan finalizado.

3.3 Diseño de equipos (foto 3)

- Evalúe el equipo para asegurar que pueda desmontarse fácilmente para su limpieza y que de que sea resistente a la corrosión y al deterioro.
- Investigue posibles sitios de refugio *Lm*, como por ejemplo las estructuras huecas.
- Todas las partes de un equipo deben ser accesibles para la limpieza e inspección o deben desmontarse fácilmente.
- Los diseños de equipos transportadores cerrados son más difíciles de limpiar. El equipo en la línea de procesamiento debe ser lo más fácil de limpiar posible.

- Evite rodillos transportadores huecos y los marcos huecos.
- Seleccione superficies en contacto con alimentos que sean inertes, lisas y no porosas.
- El equipo debe ser auto-drenante o auto-vaciante.
- Mantenga el equipo y la maquinaria adoptando un plan de mantenimiento preventivo.
- Los equipos dañados, corroídos y agrietados deben repararse o reemplazarse.
- Repare piezas o maquinaria defectuosos, de manera que evite acúmulos y restos de producto que no se puedan eliminar fácilmente con una limpieza normal.
- Utilice herramientas exclusivas solo para equipos donde se procesan productos listos para el consumo. Límpielos y desinfectelos antes y después de cada uso.
- Si se utiliza aire comprimido, mantenga y reemplace los filtros regularmente.
- Use lubricantes que contengan aditivos listericidas, como el benzoato de sodio (*Lm* puede crecer en lubricantes contaminados con restos de alimentos).
- Limpie las herramientas de mantenimiento (incluyendo llaves, tornillos y cajas de herramientas) de manera regular. Considere el designar ciertas herramientas para utilizar en áreas de producto sin procesar y otras en áreas de productos listos para el consumo.

Foto 3. Ejemplos de drenajes y mantenimiento inadecuados



3.4 Control de movimientos (flujos)

Un componente crítico es el control del movimiento (flujo) de personal y de productos crudos para evitar la contaminación cruzada del producto terminado listo para el consumo y las superficies en contacto dentro del ambiente posterior a la letalidad. Los establecimientos deben examinar las rutas que sigue el producto desde el tratamiento térmico u otros pasos de control antimicrobiano para eliminar *Lm*, hasta el envasado final.

Pueden utilizarse los siguientes pasos para desarrollar procedimientos de control:

- Establezca patrones de movimiento para eliminar el flujo de personal, contenedores de productos, ingredientes, traspaletas y contenedores de basura, entre las áreas de productos crudos y terminados. Si es posible, los empleados no deberían trabajar en áreas con productos crudos y productos listos para el consumo. Si deben trabajar en ambas áreas, deben cambiarse la ropa exterior y otras prendas sucias, lavarse y desinfectarse las manos, y cambiarse o limpiar y desinfectar el calzado.
- Si es posible, use vestíbulos entre las áreas de producto sin procesar y de productos listos para el consumo.
- Utilice sistemas de pulverización de desinfectante en espuma a cada lado del acceso a la puerta de la sala de productos listos para el consumo y un sistema temporizado o activado para la entrada /salida.
- Los suelos limpios y secos son preferibles a los baños de calzado en el punto de entrada porque éstos son difíciles de mantener con unas concentraciones efectivas de desinfectante y pueden convertirse en una fuente de contaminación. No obstante, si los baños de calzado son absolutamente necesarios:
 - Use botas de goma u otras botas no porosas o rugosas.
 - Manténgalos adecuadamente, para que estén limpios y mantengan niveles efectivos de desinfectante.
 - Las soluciones deben contener concentraciones de desinfectante más fuertes que las que se usan normalmente en el equipo (por ejemplo, 200 ppm de yodóforo, 400-800 ppm de compuesto de amonio cuaternario).
 - Use una profundidad mínima de 5cm.

NOTA: NO se recomienda el cloro para los baños de calzado debido a la inactivación rápida, especialmente si se usan botas con tacos. La acumulación de material biológico adherido a los tacos reduce la biodisponibilidad del cloro, haciéndolo menos efectivo. Si se usa, vigile y mantenga la concentración de cloro en la solución.

3.5 Higiene y prácticas higiénicas

El desarrollo de procedimientos de higiene de los manipuladores para evitar la contaminación de las superficies en contacto debe ser responsabilidad de la gerencia de la empresa. *El empleado debe ser responsable de prevenir la contaminación de los productos alimenticios y la gerencia debe ser responsable de garantizar que el empleado esté debidamente capacitado y mantenga unas buenas prácticas.*

Las responsabilidades y acciones de los manipuladores deben incluir:

- Realizar un lavado de manos de 20 segundos, permitiendo que la espuma de jabón esté en contacto con las manos durante este período de tiempo, después de usar las instalaciones del baño.
- Lavarse las manos antes de entrar al área de trabajo, al salir del área de trabajo y antes de manipular el producto.
- Si usa guantes:
 - Los guantes para manipular productos listos para el consumo deben ser desechables.
 - Deseche de inmediato y reemplace los guantes si toca cualquier cosa que no sea el producto y la superficie de contacto con el producto.
 - Deseche los guantes al salir de la línea de procesamiento.
- Quítese la ropa de abrigo, guantes, y otras prendas exteriores al salir de las áreas de procesamiento de productos listos para el consumo.
- No use abrigos, guantes, u otra ropa exterior dentro de los baños o cafeterías.
- No almacene prendas sucias en los armarios.
- No coma en el vestuario ni almacene comida en las taquillas, porque la comida puede atraer vectores que favorezcan la contaminación cruzada.
- No guarde los utensilios de trabajo en taquillas personales. Este equipo debe permanecer en el área del producto listo para el consumo en todo momento.
- Los equipos para limpiar utensilios y equipos para materias primas deben ser diferentes a los utilizados para limpiar los utensilios y equipos del producto listo para el consumo. En cualquier caso, la intención es evitar la contaminación cruzada del producto terminado.

Las responsabilidades de gestión deben incluir:

- Proporcionar instalaciones para lavarse las manos en lugares adecuados.
- Asegurarse que el empleado reciba instrucciones de higiene adecuadas antes de comenzar: uso de jabones y desinfectantes para manos, sistemas de dispensación sin contacto y sistemas de desinfección de puertas y manivelas.
- Desarrollar un sistema para supervisar las prácticas de higiene de los empleados.
- Desarrollar un sistema para verificar la capacitación.
- Volver a capacitar a los empleados antes de volverlos a poner en producción si han estado ausentes del trabajo o no han seguido las prácticas de higiene aceptables. Esto ayudará a garantizar que los empleados sigan hábitos de higiene actualizados y aceptables.
- No permita que los empleados de mantenimiento entren en áreas del producto listo para el consumo durante las operaciones de producción, principalmente porque pueden causar contaminación directa del producto si tocan o ponen sus manos "sucias" en las superficies de contacto con alimentos. Si esto no es posible:
 - Considere la necesidad de parar la producción hasta que se realice una limpieza y desinfección completas,
 - Requiera que el personal de mantenimiento se cambie la ropa exterior y cualquier otra ropa sucia, use herramientas separadas para las áreas sin procesar y del producto listo para el consumo (o lave y desinfecte las herramientas y las manos antes de entrar a las áreas del producto listo para el consumo) y use solo calzado limpio/desinfectado en dichas áreas.
 - Use equipos, herramientas y utensilios de mantenimiento separados para el área del producto listo para el consumo y las áreas sin procesar. Si no es posible, debe haber una separación de tiempo y una limpieza y desinfección previa entre las labores de mantenimiento y el procesado del producto listo para el consumo, para evitar la contaminación cruzada del producto terminado.

3.6 Control de la contaminación cruzada

Se recomiendan las siguientes pautas:

- Para los establecimientos que procesan ALC, establezca procedimientos para garantizar que otros ingredientes listos para el consumo no causen contaminación cruzada con *Listeria*.
- Mantener un programa eficaz de prevención y control de plagas. Los insectos y roedores son fuentes de *Listeria* y otra contaminación microbiana.
- Elimine el agua estancada que puede facilitar la propagación de *Lm* a otras áreas de la planta.
- Deseche los productos que toquen superficies ambientales, como los productos que caen al suelo, si el producto no se puede reacondicionar adecuadamente (por ejemplo, mediante lavado).
- Los palets pueden servir como fuente de contaminación cruzada: los palets para materias primas no deben usarse en áreas del producto listo para el consumo ni para productos terminados. Además deben permitir una higienización efectiva sobre todo en las áreas de ALC y de producto terminado.
- No permita que se acumule condensación o goteos sobre superficies de contacto o sobre el producto listo para el consumo expuesto.
- No rocíe agua con mangueras de alta presión cerca del producto expuesto. Se podrían desarrollar aerosoles que podrían contaminar el producto.
- No permita que los empleados almacenen cuchillos, guantes o equipos en sus taquillas. Proporcione áreas de almacenamiento designadas para estos artículos que permitan su fácil higienización e inspección.
- Los empleados no deben usar guantes, abrigo, batas, gorros, botas, manguitos, delantales o cualquier otra prenda de protección exterior en los baños o áreas de descanso.
- Los desagües del lado "sucio" o "crudo" no deben conectar con los del lado "limpio" o "cocido".

4. Anexos

ANEXO 1. Recomendaciones para el muestreo de superficies

(Extracto de: "Directrices para el muestreo oficial de líneas de producción de alimentos listos para el consumo que pueden plantear riesgo de *Listeria monocytogenes* y actuaciones consiguientes", AECOSAN y "Directrices sobre el muestreo de equipos y zonas de procesado de alimentos para la detección de *Listeria monocytogenes*" Versión 3 - 20/08/2012 LRUE para la *Listeria monocytogenes*, Laboratorio de Seguridad Alimentaria de Maisons-Alfort, ANSES, Francia).

Equipo de muestreo

Se recomienda que permita la fricción fuerte de las superficies y el acceso, por su flexibilidad, a cualquier lugar. La necesidad de fricción la exigen los biofilms, en ocasiones muy consolidados y adheridos. Si no se puede frotar, se puede pasar por una zona de máxima contaminación sin detectarla. Por ello se recomienda la **toallita humedecida con agua de peptona** y aplicada sobre las superficies con guantes estériles para evitar la contaminación de la muestra. La toallita permite acceder prácticamente a cualquier rincón y, en cuanto a la superficie de contacto, cuanto más se abarque, mejores resultados se obtendrán.

Otro equipo que ofrece flexibilidad y capacidad de fricción son las **esponjas abrasivas** que se usan normalmente en los mataderos para la determinación de *Salmonella*.

El **hisopo** no sería recomendable por su fragilidad, aunque puede reservarse a localizaciones en las que no es posible acceder mediante otros equipos de muestreo.

Cuando se usen diluyentes para la obtención de una muestra de superficie, es recomendable la desinfección posterior con alcohol de la zona muestreada para evitar la posible diseminación de gérmenes presentes.

1. Metodología de muestreo

1.1 Diluyentes empleados para humedecer los dispositivos de muestreo por frotado

1.1.1 Diluyentes simples

En aquellas zonas de fácil acceso de las que se tomen muestras durante o al final de la fase de transformación, se deberán utilizar diluyentes simples que no contengan neutralizadores para humedecer los hisopos u otros utensilios de muestreo por frotado.

Se recomiendan los siguientes diluyentes: solución de peptona en una concentración de 1 g/l, solución de peptona salina o solución Ringer's ¼, distribuidas en tubos o botes y esterilizadas durante 15 min a 121°C.

No se recomienda utilizar diluyentes tamponados de fosfato en caso de células estresadas por las condiciones hostiles de las instalaciones de procesado de alimentos (sal, ácidos, productos de limpieza y desinfección, etc.) debido a que pueden perjudicar su cultivo.

1.1.2 Diluyentes neutralizadores

En las zonas en las que se espere encontrar residuos de desinfectantes o en el caso de que se tomen muestras inmediatamente después del proceso de desinfección, se deberán utilizar diluyentes neutralizadores para humedecer los hisopos u otros utensilios de muestreo por frotado.

Cuando se emplee cloro o compuestos que liberen cloro, se deberá utilizar tiosulfato de sodio como neutralizador.

Asimismo, tampoco se recomienda utilizar diluyentes neutralizadores cuando no se espera la presencia de residuos de desinfectantes.

Los neutralizadores que se emplean para eliminar residuos de desinfectantes pueden tener leves consecuencias negativas para las células bacterianas y es posible que estas consecuencias sean mayores cuando las células están estresadas. De hecho, se ha demostrado que los neutralizadores reducen las tasas de cepas de *Salmonella* en las muestras de campo.

Por otra parte, se desaconseja utilizar un "caldo Fraser" (completo o semi) como sustitutivo de un diluyente dado que podría favorecer el crecimiento de *L monocytogenes* en la planta de procesado.

En el caso de otras sustancias activas, existen distintos neutralizadores (véase EN 1276 [14], EN 1650 [15], EN 13697 [16] y EN 13704 [17]), aunque ninguno de ellos es adecuado para todos los desinfectantes ("universal"). En la tabla 3, se describe un diluyente neutralizante que puede utilizarse en la mayoría de los casos. Debe distribuirse en tubos o botes y ser esterilizado durante 15 min a 121°C.

Tabla 3. Diluyente neutralizador que puede ser empleado en la mayoría de los casos (adaptación de ISO 18593)

Componente	Concentración
Monooleato de sorbitán (Polisorbato 80)	30g/l
Lecitina	3g/l
Tiosulfato de sodio	5g/l
L-histidina	1g/l
Saponina	30g/l
Peptona	1g/l
Cloruro de sodio	8,5g/l

1.2 Procedimientos de muestreo

1.2.1 Procedimiento de muestreo de superficies por frotado

En concreto y con los equipos propuestos la metodología podría ser la siguiente:

- Utilización de una **toallita húmeda** que contacta totalmente por ambos lados (importante para duplicar la superficie de contacto) 10 veces en sentido horizontal y 10 veces en el vertical por cada uno de los lados. Después de tomar la muestra introducir la toallita en bolsa o frasco estéril, identificarlo y cambiar de guantes para la siguiente muestra. Es recomendable, si se va a utilizar la ISO 11290-1 sobre detección de *Listeria monocytogenes*, llevar un matraz de "caldo Fraser" a media concentración e introducir la toallita dentro del caldo directamente para favorecer la recuperación de las bacterias lesionadas o estresadas desde el mismo momento de la toma de muestras. La pre incubación para recuperar las bacterias dañadas sería igualmente conveniente. Las consideraciones hechas para este método sobre número de pases y actuaciones posteriores son válidas para el resto de equipos.
- Si se utiliza la **esponja abrasiva** es conveniente que esté pre humedecida y el método será exactamente el mismo. Lo único que varía es que se trata de un equipo de muestreo menos flexible y con menor superficie de contacto que la toallita y como ventaja presenta mayor capacidad de fricción.
- Sobre el **hisopo**, su uso puede estar indicado en zonas no accesibles por otro método, pero su fragilidad limita la fricción y por su pequeño tamaño implica una menor superficie de contacto. En algunos tipos de superficies, los residuos de algodón pueden contaminar las partes internas de estas superficies tras el muestreo. Los hisopos pueden utilizarse húmedos o en seco. En el supuesto de que la zona de muestreo sea húmeda, se deberá utilizar un hisopo seco, mientras que en el caso de que la zona de muestreo sea seca, se deberá utilizar un hisopo húmedo. En el caso de que el muestreo tenga lugar en una zona, ya sea húmeda o seca, en la que se esperan encontrar residuos de desinfectantes (lo que es frecuente en zonas de difícil acceso), debe humedecerse el hisopo con un diluyente neutralizador (1.1.2). Los hisopos húmedos pueden ser preparados en condiciones asépticas en el laboratorio antes de llevar a cabo la campaña de muestreo. El extremo del hisopo deberá entrar en contacto ligeramente con la superficie del diluyente (1.1.1 o 1.1.2) para evitar que gotee. Posteriormente, el hisopo será devuelto al tubo, que se deberá cerrar con fuerza para mantener tanto la esterilidad como la humedad.
- Existen **rodillos** a los que se incorpora una camisa de gasa estéril que se desprende del equipo una vez tomada la muestra. Permiten presionar y friccionar constituyendo otro buen método, aunque conlleva una mayor manipulación y por tanto posibilidades de contaminación no deseables.

1.2.2. Muestreo líquido para salmuera y salsas (FSIS)

Equipo necesario:

- Guantes estériles
- Jarra estéril de 500mL u otro dispositivo de recolección de muestras
- Botella estéril de 1000mL
- 90mL de caldo D/E
- Marcador para etiquetar la muestra

Metodología

1. Lave y desinfecte las manos hasta la mitad del antebrazo. Use guantes estériles en ambas manos cuando recolecte una muestra;
2. Extraiga asépticamente una jarra estéril de 500mL (vaso de precipitados con asa) de su embalaje, teniendo cuidado de no dejar que la jarra toque ninguna superficie no estéril, incluido el exterior del envase;
3. Abra una botella de recolección y con la jarra transfiera asépticamente 500mL de agua fría o salmuera usando las gradaciones del costado de la botella de recolección para asegurar el volumen adecuado;
4. Agregue asépticamente 90mL de D/E a cada muestra recolectada para neutralizar el cloro y otros desinfectantes;
5. Tape bien la botella de recolección y mezcle suavemente girándola de un lado a otro;
6. Etiquete la botella con la fecha y lugar de origen de la muestra.
7. Enviar o entregar al laboratorio lo antes posible.

1.1.3. Transporte al laboratorio y comienzo del análisis

Las muestras se transportarán refrigeradas en un envase isotermo. El análisis de las muestras se realizará lo más rápido posible y nunca deben transcurrir más de 24-36 h. desde la toma de la misma. La hora de la toma de muestras se refleja en el acta de toma de muestras y en la ficha del laboratorio aparecerán tanto la hora de recepción como la del comienzo del análisis.

Los análisis para la investigación de *Listeria monocytogenes* se realizarán de acuerdo a la Norma ISO 11290-1 o métodos que hayan sido convenientemente validados, de acuerdo al artículo 5 del Reglamento (CE) n° 2073/2005. Los laboratorios asignados por las autoridades competentes para llevar a cabo el control oficial estarán acreditados conforme a la Norma ISO 17025.

ANEXO 2. Puntos clave para un Programa de Control de *Listeria* para establecimientos que procesan productos listos para el consumo

1. Equipos de refrigeración, equipos de tratamiento de aire, condensación o goteos y agua estancada.

- *L. Monocytogenes (Lm)* es un patógeno ambiental y puede estar presente en los equipos de enfriamiento, equipos de tratamiento de aire, agua estancada/goteos o condensación. El ambiente húmedo es propicio para el crecimiento de *Lm*.
- Corrija inmediatamente los problemas de goteo, condensación y agua estancada.
- Limpie los equipos de enfriamiento y de tratamiento de aire estableciendo una frecuencia apropiada.
- La producción de productos listos para el consumo debe pararse durante las reparaciones y el mantenimiento.

Acciones para estos problemas:

- El equipo y el área de procesamiento deben limpiarse y desinfectarse después de que las reparaciones y acciones correctivas hayan terminado.
- El equipo y el entorno del área de procesamiento deben muestrearse para *Lm* o *Listeria spp.*, antes de reanudar la producción de productos listos para el consumo.

2. Higiene del personal

- Lávese las manos antes de ponerse los guantes.
- Lávese las manos antes de reanudar las tareas tras los descansos.
- Capacitar al personal periódicamente sobre cuales son las prácticas de higiene adecuadas en un entorno de procesamiento de productos listos para el consumo.
- Vigilar las prácticas de higiene de los empleados.

3. Separación de áreas de procesamiento de productos listos para el consumo y de no de procesamiento de productos listos para el consumo

- Si procesa productos listos para el consumo y productos crudos sin procesar, separe completamente las áreas de procesamiento, en tiempo o espacio, como por ejemplo programando el procesamiento de productos listos para el consumo en días diferentes. Si esto no es posible, primero programe el procesamiento de productos listos para el consumo y después el procesamiento de productos crudos. Realice una limpieza y desinfección completa después de cada proceso de producción.
 - Utilice equipos separados para el procesamiento de productos listos para el consumo y de productos crudos. Si no es posible, programe el uso del equipo para el procesamiento de productos listos para el consumo primero, y después para el de productos crudos.
 - Asigne personal diferente para el procesamiento de productos listos para el consumo y procesamiento en crudo, especialmente si ambos se realizan el mismo día. Si no es posible, haga que el personal se lave muy bien las manos y use ropa nueva y limpia y a poder ser de distinto color, guantes nuevos, gorros para el cabello y calzado desinfectado para trabajar en las áreas de procesamiento de productos listos para el consumo.
 - Restrinja los movimientos del personal desde y hacia el área de productos crudos durante el procesamiento de productos listos para el consumo.
- Si es necesario, use un vado desinfectante para el calzado, lávese las manos y use guantes, gorros y ropa sin usar y limpia, cuando regrese al área de producción de productos listos para el consumo.
- Disponga percheros o taquillas diferentes e identificadas para la ropa usada en las áreas de procesamiento de productos listos para el consumo.
 - Use ropa codificada por colores para utilizar en el área de procesamiento de productos listos para el consumo, en el área de procesamiento en crudo y en otras áreas.
 - Mantenga procedimientos para que el personal proveniente de cualquier área común y de procesamiento en crudo, no transfiera contaminación a las áreas de productos listos para el consumo.
 - Establezca procedimientos para mover equipos de un área sin procesamiento a un área de procesamiento de productos listos para el consumo, para evitar la contaminación por *Listeria* del equipo y durante la operación de traslado.
 - Evite pasar el producto crudo a través de áreas de productos listos para el consumo y de productos listos para el consumo a través de zonas de producción en crudo.
 - No permita que los productos listos para el consumo entren en contacto con superficies o productos crudos durante el almacenamiento frigorífico.

4. Registros de procedimientos de Limpieza y Desinfección

- Mantenga registros de los procedimientos de limpieza y desinfección que se utilizan para el procesamiento de productos listos para el consumo.
- Mantenga registros de vigilancia de los procedimientos de limpieza y desinfección.
- Mantenga registros de las acciones correctivas tomadas si se produce un incumplimiento (un positivo) en un

producto listo para el consumo o en una superficie de contacto directo, para:

- garantizar la disposición adecuada de los productos,
- restablecer las condiciones sanitarias para evitar la recurrencia, y
- registrar la fecha del incumplimiento y las iniciales del empleado de la planta que realiza la acción correctiva.

5. Temperatura ambiente

- Mantenga una temperatura ambiente adecuada en las áreas de procesamiento y en las salas de envasado tal y como tenga establecido en el plan APPCC.
- Mantenga una temperatura fría (10-12°C) en la sala de envasado para

productos listos para el consumo que se refrigerarán o congelarán, para evitar el crecimiento de *Lm* en el entorno de procesamiento.

- Vigile las temperaturas tal y como tenga establecido en el plan APPCC.

6. Programa de Muestreo

- No utilice el programa de toma de muestras de *Lm* para respaldar que no es razonablemente probable que pueda haber *Lm*, creando una situación de "falsa seguridad". El programa de toma de muestras es una verificación de la efectividad del programa de seguridad alimentaria del establecimiento para controlar *Lm*.
- Mantenga un registro de todas las superficies de contacto con alimentos listos para el consumo y ambientales en el área de procesamiento que se va a muestrear. Asegúrese de que todas las superficies identificadas se muestreen activamente y tengan la misma oportunidad de ser muestreadas.

- Incluya documentación que justifique la frecuencia de las tomas de muestras.
- Incluya muestras y vigilancia de drenajes y sumideros después de un hallazgo positivo de *Lm*.
- Cuando hay resultados positivos de *Lm*, suspenda las operaciones de producción de productos listos para el consumo hasta determinar la causa u origen de la contaminación, desarrolle y aplique medidas para eliminar la contaminación y prevenir la recurrencia, y verifique que no quede contaminación residual.

7. Mantenimiento de instalaciones y equipos

- Repare inmediatamente techos con goteras, equipos rotos y agrietados, suelos, puertas, ventanas, etc. Suspnda las operaciones durante las fugas de agua y durante las reparaciones. Se recomienda analizar el medio ambiente para detectar *Listeria* spp., una vez finalizadas las reparaciones.
- Deseche utensilios o partes del equipo oxidadas y deterioradas y reemplácelas por otras nuevas de superficie lisa. Estas herramientas y piezas de equipo oxidadas y deterioradas sirven como lugares de refugio ideales para que *Lm* crezca y se multiplique.
- Lleve un registro de mantenimiento de equipos y utensilios y un programa de vigilancia para verificar que los equipos rotos, deteriorados, oxidados, o sucios son reemplazados, reparados, limpiados, etc.

8. Varios

- Para los establecimientos que procesan productos con ingredientes añadidos tras la fase de post letalidad, establezca procedimientos para garantizar que los ingredientes no causen una contaminación cruzada con *Listeria*. Por ejemplo calentar salsas y/o mantecas que se añaden tras el tratamiento térmico del producto a más de 70°C durante más de 2 minutos.
- Mantenga un programa efectivo de prevención y control de plagas. Los insectos y roedores son fuentes de *Listeria* y otra contaminación microbiana.
- Desarrolle y mantenga procedimientos para asegurar que las concentraciones de desinfectante se mantengan adecuadamente.
- Mantenga registros y verificar los procedimientos correctos para las concentraciones y la mezcla de desinfectantes.
- Deseche los productos que toquen superficies ambientales, como los productos que caen al suelo, si el producto no se puede reprocesar adecuadamente.
- Durante la limpieza y desinfección, asegúrese de que no queden restos de productos en el equipo.
- Mantenga procedimientos para la limpieza de rutina y establezca procedimientos para las limpiezas intensivas o extraordinarias.
- Cuando agregue ingredientes a un segundo recipiente, no golpee ni toque el recipiente contra el interior del otro recipiente.

ANEXO 3. Principios básicos de Limpieza y Desinfección

Es fundamental contar con un procedimiento de limpieza y desinfección sólido como prerrequisito de un programa de seguridad alimentaria robusto. Sin un programa de limpieza y desinfección adecuado, los alimentos pueden contaminarse con microorganismos que pueden poner en peligro la salud pública o causar que el alimento no sea apto para consumo.

La limpieza y desinfección elimina los residuos de alimentos que atraen y propician el desarrollo de plagas dentro y fuera del ambiente del establecimiento.

Las plagas necesitan lo mismo que las personas para vivir y reproducirse; agua, aire, comida y un hábitat. A través de la limpieza y desinfección, se eliminan alimentos, hábitats e incluso agua, para reducir el desarrollo de plagas.

Es fundamental contar con un programa adecuado de limpieza y desinfección para evitar el contacto cruzado de alérgenos entre alimentos que contienen alérgenos y aquellos que no.

Un programa sólido de limpieza y desinfección garantiza que los productos sean seguros y saludables. Además, puede solucionar problemas de calidad que exceden ámbito de la seguridad alimentaria.

El método de limpieza debe considerar el tipo de equipamiento que se está limpiando y los peligros que deben ser

controlados. La limpieza en húmedo es a menudo el método más efectivo para eliminar residuos alimentarios, especialmente cuando el producto de limpieza es seleccionado considerando el tipo específico de residuo alimentario. Los métodos manuales con espuma/gel, la limpieza en sitio (CIP) y la limpieza fuera de sitio (COP) pueden resultar efectivos para implementar limpieza en húmedo.

La contaminación microbiana y los alérgenos pueden trasladarse como polvo por aire presurizado o suspendidos en líquido mediante vapor o agua a alta presión. Es difícil controlar un posible reingreso de estos peligros en la corriente de procesamiento. Estos métodos deben evitarse a menos que se cuente con sistemas de capturas como las aspiradoras.

Las áreas de trabajo y el equipamiento deben limpiarse antes de ser desinfectados. La utilización de un desinfectante en una superficie sucia puede resultar inefectiva, ya que el residuo de un alimento puede propiciar la desactivación de los ingredientes activos. Es por esto, que el saneamiento suele incluir dos pasos: limpieza y desinfección.

En la industria alimentaria, la limpieza consta de varios pasos específicos, que incluyen la pre limpieza, el pre enjuagado, el lavado, el post enjuagado, la inspección y la desinfección.

- En la **pre limpieza** se utiliza una escoba, un cepillo, un recogedor u otros utensilios apropiados para levantar las partículas de alimentos y residuos de las superficies antes del pre enjuagado. Este paso puede reducir el tiempo y la necesidad de usar químicos durante el proceso de limpieza.
- El **pre enjuagado** con agua potable elimina remanentes de pequeñas partículas de alimentos y residuos y sirve para mojar y preparar la superficie para el uso de detergente.
- El **lavado** consta de la utilización de detergentes apropiados según el tipo de suciedad, tipo de superficie a limpiar y método de limpieza empleado (manual, espuma/gel, CIP, COP). El detergente no solo ayuda a eliminar residuos de las superficies, sino que también los aísla para que puedan ser eliminados durante el enjuagado. La efectividad de la limpieza se ve afectada por cuatro factores principales: *concentración química, acción mecánica, tiempo y temperatura*. Siga las instrucciones del fabricante en cuanto al tiempo de contacto del detergente y las temperaturas recomendadas para equilibrar estos cuatro factores.
- En la etapa **post enjuagado** el agua potable elimina el detergente y los restos de suciedad desprendida en las superficies. Este proceso prepara las superficies para su desinfección. Todos los restos de detergente deben ser eliminados, ya que pueden inactivar ciertos desinfectantes.
- La **inspección** de superficies limpias brinda información inmediata sobre la efectividad del programa de limpieza. Por ejemplo, si hay evidencia de residuos, las superficies deben limpiarse nuevamente. Herramientas tales como linternas, retroiluminación y reflectores sirven para identificar suciedad remanente, que indica que la limpieza fue inefectiva. También es útil tomar muestras microbiológicas, de ATP y de proteínas para verificar la eficacia de la limpieza. Si una superficie es difícil de alcanzar o de ver, es posible que también sea difícil de limpiar. En algunos casos resulta necesario desmontar los equipos para garantizar que la limpieza logra los objetivos previstos.
- La **desinfección** sirve para inactivar los patógenos después de limpiar y enjuagar las superficies. Todos los desinfectantes deben utilizarse respetando las instrucciones de uso que aparecen en la etiqueta o en la ficha técnica.

Existen diferentes formas de eliminar los residuos:

- Los **métodos manuales** suponen el lavado de objetos manualmente en un recipiente (o en un fregadero) para adicionar el producto de limpieza y un cepillo u otra herramienta para restregar. Los objetos pueden dejarse en remojo para aumentar el tiempo de contacto y reducir la cantidad de fregado necesario para eliminar la suciedad.
- Los **métodos con espuma/gel** emplean limpiadores más concentrados que pueden aplicarse en la superficie del equipo sucio. Esta mayor concentración reduce el tiempo necesario para eliminar la suciedad. Un atomizador de agua ayuda a eliminar el producto limpiador y la suciedad desprendida.
- Los **métodos mecánicos** incluyen hidrolavadoras y sistemas CIP y COP. Las hidrolavadoras pueden ser tipo transportadora (como en un autolavado) o en túneles. Los sistemas CIP limpian las superficies internas de los equipos de producción sin desarmarlos. Los productos de limpieza tocan las superficies a través de circulación bombeada y atomización automática. Los sistemas COP limpian las partes de los equipos desarmados que se colocan en un tanque en el que circula el producto de limpieza.

En cualquier proceso mecánico es importante respetar los parámetros de proceso definidos (como concentración, velocidad, etc.) para garantizar la idoneidad del proceso.

Un **diseño higiénico** puede resultar útil para prevenir la contaminación del producto. La solución más indicada para evitar que queden nichos en establecimientos que elaboran productos listos para el consumo y que emplean limpieza en húmedo, es el rediseño de los equipos para eliminar los espacios huecos.

Las hendiduras y grietas en equipos, suelos y paredes presentan retos similares para la limpieza y desinfección. Los elementos necesarios para limpiar (tiempo, temperatura, fuerza mecánica y concentración química), simplemente no pueden utilizarse de forma fiable en estas zonas delicadas. Si se utiliza este tipo de equipos, es importante mantenerlos secos para evitar posibles fuentes de contaminación. También puede resultar necesario desmontar los equipos para realizar una limpieza profunda de no ser posible un nuevo diseño.

En aquellos casos en que la limpieza en húmedo, aumenta el riesgo de proliferación de patógenos ambientales como Salmonella, o no es recomendable por la naturaleza de los productos allí manipulados (zonas de almacenamiento y dosificación de especias y aditivos en las industrias cárnicas, por ejemplo), se deberán emplear métodos de limpieza en seco. Las herramientas para limpieza en seco incluyen aspiradoras, raspadoras y cepillos. Estas herramientas deben tener un diseño higiénico y estar en buenas condiciones, sin grietas, etc.

La zonificación higiénica (véase el apéndice 4) debe realizarse para lograr una limpieza en seco más efectiva. Por ejemplo, se recomienda que los equipos de limpieza en seco se usen exclusivamente en el área o la sala que está siendo limpiada.

Durante la limpieza en seco, los residuos de alimentos se eliminan mediante acciones físicas o mecánicas como el aspirado, el cepillado y la abrasión. Como fue planteado anteriormente, es esencial que la limpieza no traslade peligros (como patógenos, restos de aditivos o alérgenos) a otras superficies. Se deben utilizar sistemas de captura (como aspiradoras) en algunas de estas técnicas. La limpieza en seco de líneas de procesamiento cerradas puede requerir

el uso de material de empuje, por ejemplo en caso de limpieza de alérgenos. El equipamiento debe estar tan limpio como sea posible con métodos en seco antes de utilizar material de empuje.

Se deberán inspeccionar aquellas áreas limpiadas en seco para verificar la eficacia de la limpieza. El área puede no estar brillante ni completamente despojada de polvo; sin embargo, deberían quedar muy pocos residuos sobre el equipo. Ya que algunos residuos de alimentos pueden persistir, debe considerarse la efectividad de los procedimientos de limpieza en seco para eliminar alérgenos alimentarios.

Materiales para las Superficies en Contacto con los Alimentos

La selección y diseño adecuado de los materiales de las superficies en contacto con los alimentos puede ayudar a prevenir la contaminación potencial de los alimentos. Las características de durabilidad y funcionalidad son importantes, pero no pueden comprometer la preocupación por la seguridad de los alimentos. En términos simples, las superficies deben ser inocuas, no corrosivas y de fácil limpieza y desinfección.

La mayoría de las superficies metálicas son propensas a la corrosión directa por los alimentos (por ejemplo, escabechados, salmuera o adobos) o de los productos químicos usados para limpiar y desinfectar. La selección de las superficies metálicas debe considerar el tipo de proceso y el tipo de alimento. El proceso de

corrosión se debe a la acidez (pH), la salinidad, la temperatura y el tiempo de exposición. Juntar dos o más metales diferentes a menudo acelerará enormemente la corrosión debido a la generación entre las partes de un voltaje eléctrico bajo, pero destructor.

El acero inoxidable es a menudo la superficie preferida para el contacto con los alimentos porque puede fabricarse con una terminación lisa y suave, fácil de limpiar y además es duradero. Aunque la inversión inicial puede ser relativamente alta, el costo puede recuperarse mediante el mantenimiento y uso prolongado. El acero inoxidable no pulido puede ser muy atractivo, pero estas superficies contienen miles de ranuras diminutas en la superficie que dificultan la limpieza. No debe usarse este tipo de acero.

La tabla 4 muestra cuáles son las características generales de algunas superficies en contacto con los alimentos. No obstante recuerde que los materiales en contacto con alimentos deben cumplir las normativas europeas relativas a los mismos.

Tabla 4. Características generales de algunas superficies que pudieran plantear su uso en contacto con los alimentos

Materiales de las superficies	Problemas	Recomendaciones
Hierro fundido	Los detergentes ácidos o clorados pueden causar oxidación. Carece de resistencia.	No recomendado para el procesamiento de alimentos.
Vidrio	Los compuestos cáusticos fuertes pueden atacar el vidrio.	Limpiar con detergentes moderadamente alcalinos o neutros
Plásticos	Algunos se manchan fácilmente. Los materiales actualmente disponibles no pueden usarse a temperaturas de procesamiento muy bajas o altas.	Mejor para coordinar por color los elementos para un uso determinado (es decir, crudo versus cocinado) y seleccionar plásticos que no se deformen o se resquebrajen cuando se expongan temperaturas de procesamiento.
Caucho	Dañado por ciertos solventes.	Evite los tipos porosos o esponjosos que retienen agua o desechos alimentarios.
Acero inoxidable	Costoso, ciertos grados se “pican” por el cloro u otros oxidantes.	La mejor superficie metálica para el procesamiento de alimentos. Considere la serie de grado AISI 300.
Plomo	Soldaduras y uniones que contienen más de un 0,2% plomo no deben usarse como superficies en contacto con los alimentos.	Trate de evitar su uso en la planta de procesamiento de alimentos.
Madera	Permeable a la humedad y a petróleos/grasas. Ablandada por álcalis y otros cáusticos. A menudo difícil de limpiar.	Limitar su uso como superficies en contacto con los alimentos.
Metales galvanizados	Tienden a oxidarse dejando un subproducto de polvo blanco debido a la corrosión del zinc que podría contaminar los productos.	Evite su uso como superficies en contacto con los alimentos. No debe usarse con alimentos ácidos.
Pintura y materiales de sellado	Lixiviación química, descamación y pelado.	Generalmente no recomendado para las superficies de contacto directo, especialmente aquellas sujetas a la abrasión.

El **aluminio** se usa principalmente para la construcción de los utensilios debido a su baja densidad así como por los bajos costes de fabricación. El aluminio tiene resistencia mecánica baja y se corroe rápidamente en un ambiente ácido (por ejemplo, superficie picada de la mesa). Se está reduciendo el uso del aluminio debido a que se corroe por los productos de limpieza y las soluciones desinfectantes.

El **latón** (aleación de cobre-zinc) y el cobre se ha usado históricamente para la fabricación de superficies en contacto con los alimentos. Sin embargo, su uso ha disminuido debido a las reacciones moleculares con ingredientes alimentarios y poca resistencia a la corrosión. Asimismo, el latón y el cobre pueden producir decoloraciones en los alimentos. Aceleran la oxidación del ácido ascórbico (vitamina C) y facilitan el inicio del enranciamiento de los alimentos con alto contenido en ácidos grasos no saturados.

Otros metales, como el **hierro fundido** se han usado para fabricar superficies en contacto con los alimentos. Se incluye en el grupo conocido como "metales ferrosos", este grupo se corroe muy rápido al contacto con agua, y en consecuencia, no pueden usarse en la construcción de superficies en contacto con los alimentos. La corrosión crea cavidades que reducen la eficacia de los programas de limpieza y desinfección.

Las **tablas de madera** o tablas de cortar no se recomiendan porque el uso normal conduce a desarrollar una superficie áspera que facilita la acumulación de restos de alimentos y la acumulación de microorganismos y dificulta la limpieza y desinfección.

Las **superficies plásticas** ofrecen una gama amplia de propiedades asociadas con tolerancia a la temperatura, adaptabilidad, dureza y flexibilidad. La decisión de reemplazar el metal con plásticos como una superficie en contacto con los alimentos se basa en su resistencia mecánica y compatibilidad con los requisitos de procesamiento.

Las **vestimentas exteriores**, en particular los delantales y los guantes se consideran superficies en contacto con los alimentos. De hecho, debe considerarse cualquier vestimenta que establece habitualmente contacto con los alimentos. El lavado frecuente de los guantes, los delantales y otras vestimentas que pueden contactar los alimentos, ya sea directamente o indirectamente, es muy importante para asegurar un producto alimentario seguro y de alta calidad.

Cuando no estén en uso, los guantes y las vestimentas deben almacenarse en zonas limpias secas y separadas de la ropa sucia. Se deben establecer políticas definidas de la empresa para comprar, limpiar y almacenar la ropa y los guantes. Estos artículos deben almacenarse para que el aire circule alrededor de ellos para facilitar el secado. Si se pliegan o amontonan en una pila cuando están aún húmedos, pueden crecer un gran número de bacterias en su superficie durante el almacenamiento.

Los guantes, los delantales y otras vestimentas, deben estar diseñados adecuadamente para el uso esperado y estar fabricados con materiales duraderos. Por ejemplo, deben usarse guantes hechos de materiales no absorbentes (plástico o caucho).

Diseño del Equipo, Fabricación y Ubicación

Las superficies en contacto con los alimentos deben estar diseñadas y fabricadas para que puedan limpiarse y desinfectarse fácilmente. Cualquier unión debe tener terminaciones lisas. El equipo debe estar diseñado para evitar ángulos o estructuras que obstaculicen la adecuada limpieza y la desinfección. Las superficies deben drenar bien. El equipo fijo debe estar ubicado suficientemente lejos de las paredes de procesamiento y del suelo para permitir el acceso a su limpieza. Ha de asegurarse que las estructuras de soporte estén soldadas y no dejen espacio a los vectores para esconderse. Determine que la maquinaria de procesamiento esté instalada o reubicada por encima del nivel del suelo para facilitar el mantenimiento, la limpieza y desinfección. Si se requiere una base sólida montada sobre el suelo, el empalme del suelo-maquinaria debe ser abovedado y firmemente sellado. Una acción recomendada sería llenar las bases huecas del suelo con un material adecuado. El equipo debe estar diseñado con la menor cantidad posible de soportes, considerando lo estrictamente necesario para mantener la seguridad de los alimentos y los requisitos requeridos para aguantar el peso de las máquinas y equipos.

Cuando se adquieren los equipos, observe la colocación de los motores eléctricos y los tableros de control. Los motores deben estar montados en el equipo en vez de en el suelo de la zona procesado, y nunca sobre las líneas de producción. Aún más, las conexiones eléctricas con los motores deben ser a prueba de agua y los conductos eléctricos deben estar sellados para eliminar

las entradas de los insectos. Los cables eléctricos deben agruparse y protegerse dentro de conductos para facilitar la limpieza. Las cajas del conmutador deben colocarse lejos del equipo de procesamiento para permitir la limpieza sin correr riesgos eléctricos. Las unidades montadas en el suelo deben tener la superficie superior inclinada para facilitar el drenaje.

Las cintas transportadoras deben estar hechas de materiales no absorbentes y resistentes a la corrosión (por ejemplo, nilón o acero inoxidable) que son fáciles de limpiar. Los requisitos de temperatura son importantes cuando se seleccionan las cintas transportadoras debido a que muchos materiales plásticos no pueden resistir las temperaturas criogénicas usadas en los túneles de congelación o el calor alto de las freidoras. Los motores y los cojinetes deben colocarse donde los lubricantes no adulteren el producto alimentario.

El agua y el vapor deben suministrarse a los equipos utilizados en el proceso por medio de tuberías que estén debidamente aisladas ya que si la temperatura superficial de estas es muy alta o suficientemente baja puede condensar el vapor de agua de la atmósfera lo que daría lugar a un problema de saneamiento. Los filtros deben inspeccionarse mensualmente o con una mayor frecuencia si la producción así lo requiere.

Durante el reemplazo, la tubería debe ser instalada o reubicada a al menos 30cm de las paredes y los suelos para facilitar una minuciosa limpieza y desinfección. Las varillas de suspensión de las tuberías deben ser redondas.

Limpeza y Desinfección de las Superficies en contacto con los alimentos

Las superficies en contacto con los alimentos limpias e higiénicas son fundamentales para el control de los microorganismos patógenos. La contaminación de los productos través del contacto directo o indirecto con superficies no higiénicas compromete potencialmente la seguridad de ese

producto para el consumo. Los procedimientos operativos eficaces de limpieza y desinfección incluye típicamente cinco pasos: limpiado en seco, el pre-enjuague (corto), la aplicación de detergente (puede incluir fregar y restregar), el enjuague posterior y la aplicación de desinfectante.

Limpeza

No puede dejar de exagerarse la importancia de la limpieza. La eficacia del programa de limpieza y desinfección de una empresa se relaciona más a menudo con la implementación de los procedimientos adecuados de limpieza que con el tipo de desinfectante usado. Limitarse simplemente al enjuague del equipo y las superficies de procesamiento con una solución de desinfectante, en muchas ocasiones de cloro, a cualquier concentración, no desinfectará las superficies a menos que primero se limpien con un detergente apropiado. La selección de los detergentes y desinfectantes, sus concentraciones y método de aplicación dependerá de varios factores, incluyendo:

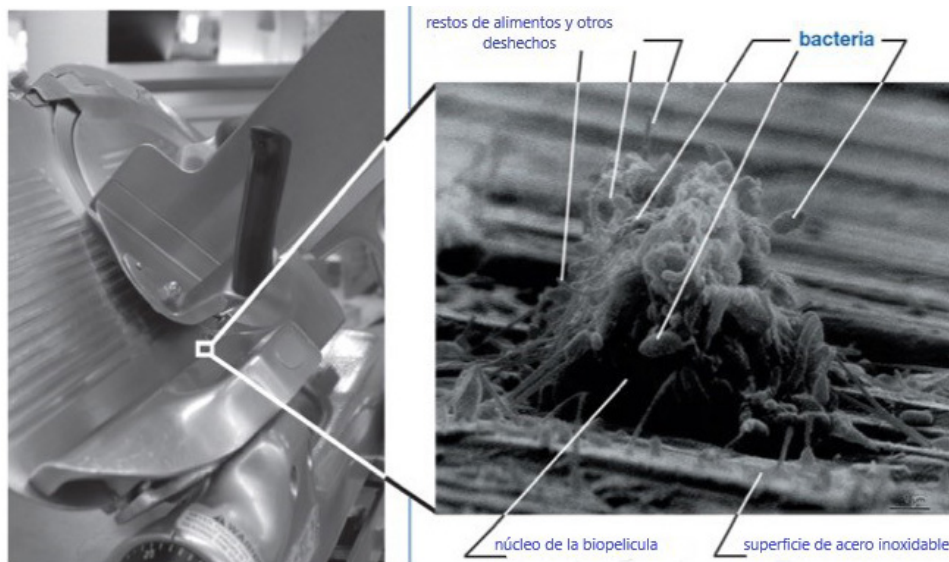
- 1) la naturaleza de la suciedad;
- 2) el grado de limpieza y desinfección requerida;
- 3) el tipo de superficie a limpiar; y
- 4) el tipo de equipo usado para la limpieza y desinfección.

No se puede depender solo de los desinfectantes para eliminar los microorganismos.

La suciedad incluye restos de tejidos animales, desechos del proceso, grasa, películas bacterianas, polvo, etc. Esto no es siempre evidente.

Ciertas bacterias, incluidos algunos agentes patógenos, se pueden adaptar a las condiciones adversas al formar una película orgánica protectora (biopelícula). Cambian físicamente, generando prolongaciones que las adhieren a la superficie y entre sí. Posteriormente liberan una capa de una sustancia viscosa (un polisacárido) que los protege aún más. Las bacterias en una biopelícula, no se eliminan eficazmente con agua y jabón y son hasta 1.000 veces más resistentes a los desinfectantes comunes que cuando están en estado libre. Debe seguirse una rutina sistemática de limpieza para eliminar estas biopelículas y otras suciedades.

Foto 4. Imagen S.E.M de un biofilm en una loncheadora.



ASM. Biofilm Collection. Donlan & Gibbon

Los **detergentes** ayudan a la eliminación de partículas y reducen el tiempo de limpieza y el consumo de agua. Cada detergente es diferente y deben seguirse las direcciones del fabricante. Muchos limpiadores domésticos y aquellos concebidos para un contacto manual extenso se denominan limpiadores de uso general. Son muy suaves y seguros para su uso en superficies pintadas o corrosibles y son eficaces para superficies no muy sucias o cuando se les dá suficiente tiempo de contacto y fregado.

Los **detergentes alcalinos o clorados** se recomiendan para la mayoría de las aplicaciones de plantas de procesamiento y son más eficaces contra los residuos alimentarios que los limpiadores de uso general. Los detergentes alcalinos varían de moderadamente a sumamente alcalinos (cáusticos). Los productos clorados son generalmente más agresivos para reblandecer suciedades protéicas persistentes o para

las superficies que son difíciles de limpiar debido a su forma o tamaño, como por ejemplo superficies perforadas y contenedores de desechos. Son alcalinos y muchos de ellos son muy corrosivos. No deben usarse en materiales corrosibles, como el aluminio. Aunque *son clorados para ayudar con la disrupción química de los residuos, son detergentes y no desinfectantes.*

Una estrategia común para las operaciones en que corrientemente se emplean los limpiadores de uso general, es cambiar a un detergente clorado dinámico durante una o dos semanas, y luego mantener la limpieza con un detergente alcalino algo más leve. Aunque la mayoría de los residuos del procesamiento contienen principalmente proteínas que se eliminan mejor con detergentes alcalinos y clorados, la limpieza ocasional con un **detergente ácido** eliminará los depósitos minerales inorgánicos (incrustaciones) y las manchas asociadas con las aguas duras.

En situaciones donde es un problema la exposición a condiciones alcalinas o ácidas excesivas, si el equipo es susceptible a la corrosión, los detergentes enzimáticos pueden ser una alternativa aceptable. Debido a que las enzimas son específicas para un tipo de residuo determinado, estos detergentes pueden no ser tan eficaces como otros detergentes para un uso general de la

planta. Los **detergentes enzimáticos** son elaborados para proteínas, petróleo o residuos a base de carbohidratos.

En definitiva, para cualquier detergente y residuo dado, la eficacia del lavado dependerá de varios factores básicos: el tiempo de contacto, la temperatura, la disrupción física del residuo (fregado) y la química del agua.

Desinfección

Después de limpiar las superficies en contacto con los alimentos, deben ser desinfectadas para eliminar o al menos reducir las bacterias potencialmente perjudiciales. Todos los desinfectantes deben ser aprobados para su uso en establecimientos de alimentos y preparados y aplicados como se indique en la ficha técnica.

Tipos de desinfectantes

Lamentablemente no existe ningún desinfectante ideal para cada necesidad. El **cloro** y los productos que producen cloro comprenden el grupo más grande y más común de agentes de desinfección para la planta de alimentos. Los desinfectantes de cloro son eficaces contra muchos tipos de bacterias y hongos. Funcionan bien a temperatura ambiente y toleran el agua dura. Son también de relativamente de bajo coste.

El cloro existe en más de un estado químico cuando se disuelve en agua. La eficacia como desinfectante del cloro es proporcional al porcentaje de ácido hipocloroso en la solución, la forma química más eficaz del cloro. El porcentaje de ácido hipocloroso aumenta con la reducción de la alcalinidad (pH). El pH de algunas fuentes de agua se eleva artificialmente, lo que reduce la eficacia del cloro.

Sin embargo, el cloro es muy inestable a pH bajo y puede disiparse prematuramente sin matar las bacterias. Además, a un pH bajo 4,0, se forma cloro gaseoso que es sumamente tóxico y corrosivo. Por estas razones, los desinfectantes de cloro se aplican generalmente a pH alcalino o en una fórmula para mantener un pH cercano al neutro. Además, ***nunca mezcle el cloro y el amoníaco. La mezcla podría ser peligrosa.***

Los desinfectantes de cloro tienen sin embargo ciertas desventajas. Pueden ser corrosivos para el equipo y pueden formar subproductos organoclorados en el agua, lo cual implicaría una preocupación ambiental. El cloro es intrínsecamente inestable en solución, requiriendo una vigilancia y una renovación frecuente para mantener la concentración adecuada. Una concepción errónea común, es que el contenido de cloro de un desinfectante puede ser confirmado por su olor.

El cloro se une químicamente en presencia de la mayoría de los detritos orgánicos, en consecuencia es importante y necesario limpiar y enjuagar a fondo las superficies antes de aplicar el desinfectante. Una solución ya utilizada que todavía huele a cloro, puede tener poco o ningún cloro activo disponible para eliminar los microorganismos.

Del cloro total aplicado, la cantidad de cloro libre disponible para eliminar los microorganismos es la cantidad en exceso de aquel cloro combinado (atrapado) por los restos de alimentos y otros compuestos. Este cloro "atrapado" se conoce como la demanda de cloro. Según se agrega cloro a un sistema, el punto en que la demanda de cloro queda satisfecha y persisten niveles de cloro libre y cuantificable, se conoce como el punto de ruptura.

La cloración del punto de ruptura es el proceso de usar suficiente cloro para lograr un nivel persistente del cloro libre cuantificable en la solución.

Los *hipocloritos* (lejías) son los desinfectantes de cloro más comunes. Están disponibles como concentrados líquidos o en forma seca/granular. El cloro puede también inyectarse como un gas directamente en las líneas de agua. Esta es una opción de bajo coste

para las operaciones grandes pero es potencialmente peligroso y requiere de equipo especialmente diseñado. También se dispone de formas orgánicas de cloro estabilizadas. Ocasionalmente se propone la mezcla de vinagre o de otro ácido con desinfectantes de cloro para aumentar su eficacia pero esta práctica no es recomendable. No solo porque el cloro se disipa antes de hacer contacto con los microorganismos sino porque también se puede formar cloro gaseoso que sería peligroso, si la solución se acidifica en exceso.

El *dióxido de cloro* funciona en forma diferente a otros desinfectantes basados en cloro. No forma ácido hipocloroso pero se disuelve en agua para producir una solución que posee fuertes propiedades oxidantes. Puede ser más eficaz que el cloro en función de la capacidad para matar o reducir las bacterias y retiene alguna función antimicrobiana en presencia de los residuos orgánicos. Por ese motivo, es particularmente útil para destruir las bacterias en las biopelículas. Es también menos corrosivo para el acero inoxidable y es menos sensible al pH que el cloro. Lamentablemente, el dióxido de cloro es muy inestable, es potencialmente explosivo y muy tóxico.

La siguiente Tabla 5 muestra los principales tipos de desinfectantes.

Tabla 5. Tipos de Desinfectantes

Desinfectante	Forma / descripción	Ventajas	Desventajas
Clorados	Hipocloritos (lejías) y cloro orgánico, por ejemplo, las Cloraminas	<p>Mata la mayoría de los tipos de microorganismos</p> <p>Menos afectado por el agua dura que otros</p> <p>No forma películas</p> <p>Eficaz a temperatura baja</p> <p>Relativamente de bajo costo</p> <p>Concentración determinada por las tiras de prueba</p>	<p>Puede corroer los metales y debilitar el caucho</p> <p>Irrita la piel, los ojos y garganta</p> <p>Inestable, se disipa rápidamente</p> <p>El cloro líquido pierde potencia en el almacenamiento</p> <p>pH sensible</p>
Yodóforos	Yodo disuelto en agentes tensioactivos y ácidos	<p>Elimina la mayoría de los microorganismos</p> <p>Menos afectado por la sustancia orgánica que algunos</p> <p>Menos pH sensible que el cloro</p> <p>Concentración determinada por las tiras de prueba.</p>	<p>Puede manchar los plásticos y los materiales porosos</p> <p>Desactivado encima de 50°C</p> <p>Eficacia reducida a pH alcalino</p> <p>Más costoso que los hipocloritos</p> <p>Puede ser no apropiado para el CIP debido a que produce espuma</p>
Compuestos de amonio cuaternario	Cloruro de benzalconio y compuestos relacionados, a veces denominados quats o QACs	<p>Sustancia no corrosiva</p> <p>Menos afectado por la sustancia orgánica que algunos</p> <p>Actividad antimicrobiana residual si no es enjuagado</p> <p>Poder aplicarse como espuma para el control visual</p> <p>Eficaz contra <i>Listeria monocytogenes</i></p> <p>Eficaz para el control de olores</p> <p>Concentración determinada por las tiras de prueba</p>	<p>Desactivado por la mayoría de los detergentes</p> <p>Puede ser ineficaz contra ciertos organismos</p> <p>Puede ser desactivado por el agua dura</p> <p>Eficacia varía con la formulación</p> <p>No tan eficaz a temperatura baja como algunos</p> <p>Puede ser no apropiado para el CIP debido a que produce espuma</p>
Ácido-aniónico	Combinación de ciertos agentes tensioactivos no iónicos y ácidos	<p>Enjuague y desinfección ácida en un paso</p> <p>Muy estable</p> <p>Menos afectado por la sustancia orgánica que algunos</p> <p>Puede aplicarse a altas temperaturas</p> <p>No se ve afectado por aguas duras</p>	<p>Eficacia varía con el tipo de microorganismo</p> <p>Más costoso que algunos pH sensibles (usar debajo del pH 3,0)</p> <p>Corroe algunos metales</p> <p>Puede ser no apropiado para el CIP debido a que produce espuma</p>

Desinfectante	Forma / descripción	Ventajas	Desventajas
Compuestos peroxy	Ácido acético y peróxido de hidrógeno combinados para formar ácido peroxyacético	Mejor contra las bacterias en biopelículas Elimina la mayoría de los microorganismos Relativamente estable en uso Eficaz a las temperaturas bajas Espumante bajo apropiado para el CIP	Más costoso que otros Desactivado por algunos metales/sustancias orgánicas Puede corroer algunos metales No tan eficaz como algunos contra las levaduras y mohos
Ácido carboxílico	Ácidos grasos combinados con otros ácidos; a veces denominados ácidos graso desinfectantes	Mata la mayoría de los tipos de bacterias Enjuague y desinfección ácida en un paso Espumante bajo, apropiado para el CIP Estable en la presencia de sustancia orgánica Menos afectado por el agua dura que otros	Desactivado por algunos detergentes pH sensible (uso debajo del pH 3,5) Menos eficaz que el cloro a temperatura baja Puede dañar materiales de acero no inoxidable Menos eficaz contra las levaduras y mohos que otros
Dióxido de cloro	Gas formado en el lugar y disuelto en la solución o mediante la acidificación del clorito y sales de clorato	Mata la mayoría de los microorganismos Oxidante más fuerte (desinfectante) que los desinfectantes clorados	Inestable y no puede almacenarse Sustancia potencialmente explosiva y tóxica Relativamente elevado en costo del equipo inicial
Cloro	Gas formado en el lugar y disuelto en la solución	Elimina la mayoría de los microorganismos Oxidante más fuerte (desinfectante) que los desinfectantes clorados y el dióxido de cloro	Inestable y no puede almacenarse Puede corroer los metales y debilitar el caucho Substancia potencialmente tóxica Desactivado por la sustancia orgánica (similar al cloro) pH sensible Más costoso que la mayoría
Agua caliente/ Soluciones calentadas	Agua a 75°C-90°C	Elimina la mayoría de los tipos de los microorganismos Penetra en las superficies irregulares Apropiado para el CIP Relativamente de bajo coste	Puede formar películas en el equipo Riesgo de quemadura Sensible al tiempo de contacto; inapropiado para la limpieza y desinfección general

Los compuestos de *amonio cuaternario*, a veces conocidos como quats o QACs han vuelto a ser usados en los últimos años. Requieren de una exposición relativamente larga para lograr una muerte significativa de bacterias. Sin embargo, esto no es siempre un problema ya que son muy estables y continuarán eliminando bacterias mucho tiempo después que la mayoría de los desinfectantes pierdan su eficacia. Debido a este efecto residual, aun en presencia de restos orgánicos, son a menudo seleccionados para baños de zapatos, suelos y superficies de las cámaras frías. Son muy eficaces contra el agente patógeno *Listeria monocytogenes* y se usan comúnmente en instalaciones que preparan productos ALC.

Lamentablemente, los quats también pueden ser selectivos en los tipos de microorganismos que eliminan. Algunos procesadores de alimentos que han cambiado a quats han experimentado problemas con el establecimiento de coliformes o de organismos de la descomposición, los cuales posteriormente pueden ser transferidos mediante contaminación cruzada a los alimentos. Una estrategia que es a menudo exitosa, incluye la rotación con otros desinfectantes un par de veces por semana. Los detergentes deben enjuagarse a fondo de las superficies antes de aplicar los quats o algún desinfectante que se neutralice químicamente.

Los desinfectantes basados en el yodo, conocidos como *yodóforos*, se formulan con otros compuestos para mejorar su eficacia. Tienen muchas características que son deseables en un desinfectante. Eliminan la mayoría

de los tipos de microorganismos, incluidas las levaduras y los mohos, aun actuando a bajas concentraciones.

Toleran una contaminación moderada con residuos orgánicos, son menos corrosivos y sensibles que el cloro y son bastante más estables durante el uso y almacenamiento. Son también menos irritantes para la piel que el cloro y son a menudo utilizados para desinfectar las manos. Los yodóforos tienen un color ámbar café claro cuando son diluidos, lo cual puede ser útil para su control ya que el color indica la presencia de yodo activo. También se dispone de tiras de prueba para una vigilancia más precisa. La principal desventaja de los yodóforos es que manchan, especialmente los plásticos. El problema se reduce al mínimo al controlar cuidadosamente las concentraciones. Los yodóforos tardan más en eliminar los microorganismos a bajas temperaturas en comparación con el cloro, se vaporizan rápidamente y se desactivan por encima de los 50°C. Los yodóforos deben formularse especialmente para su uso con aguas duras.

Los desinfectantes ácidos incluyen los *ácidos-aniónico, carboxílico y peroxiacético*. Su ventaja principal es su uso en aquellas aplicaciones que requieren estabilidad a altas temperaturas o en presencia de sustancia orgánica. Siendo ácidos, eliminan los residuos inorgánicos, durante el proceso de desinfección. Se usan comúnmente en CIP. Los desinfectantes de ácido carboxílico, son en general más eficaces que el ácido-aniónico frente una gran variedad de tipos de microorganismos. El tipo más reciente del grupo de los desinfectantes ácidos lo constituye el de los *compuestos de peroxi, o el ácido peroxiacético*.

Producido al combinar el peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) y ácido acético (ácido del vinagre), el ácido peroxiacético es sumamente eficaz contra la mayoría de los microorganismos de preocupación para las industrias alimentarias, especialmente para la eliminación de biopelículas. Actúan rápidamente incluso a temperaturas bajas, toleran algún residuo orgánico y se degradan formando subproductos que son ambientalmente seguros. Sin embargo, la composición química del agua es importante ya que estos desinfectantes se desactivan por ciertos iones metálicos, como el hierro, y se hacen muy corrosivos cuando se mezclan con un agua que contiene altos niveles de cloruro sódico.

Otros agentes desinfectantes incluyen el ozono, la luz ultravioleta y el agua caliente. El *ozono* es un gas oxidante inestable que debe generarse en el lugar, lo que hace que su costo sea relativamente elevado. Es un desinfectante más dinámico que el cloro pero requiere de una vigilancia cuidadosa para prevenir la liberación de excesivos niveles del gas tóxico. El ozono, como el cloro, se disipa cuando entra en contacto con residuos orgánicos. Puede inyectarse en los sistemas de agua, como una alternativa al cloro gaseoso, para hacerlos más seguros.

La *irradiación ultravioleta (UV)* se usa a veces para tratar el agua, el aire o las superficies que pueden colocarse muy próximas a las lámparas generadoras de luz ultravioleta. No toda las luces ultravioleta tienen poder germicida, solo la radiación ultravioleta UVC (en torno a los 254nm de longitud de onda), también denominada ultravioleta de onda corta tiene esta propiedad.

Son producidas por tubos tipo fluorescente o bombillas tipo CFL (*compact fluorescent lamps* o bombillas de bajo consumo no leds) con mercurio en su interior y paredes de cuarzo fundido ya que el vidrio común y los plásticos bloquean el paso de esta radiación. Dado el escaso poder de penetración de los rayos ultravioleta UVC no penetran líquidos turbios o debajo de la superficie de las películas o los sólidos adheridos. No tiene ninguna actividad residual y no puede bombearse o aplicarse sobre el equipo como la mayoría de los desinfectantes químicos. Este tipo de radiación tiene un gran poder ionizante, ahí precisamente radica su poder germicida, por lo que la exposición a ésta *puede provocar importantes lesiones en piel y ojos*, lo que obliga a utilizar equipos especiales de protección individual. Su uso queda prácticamente restringido a mantener las condiciones de esterilidad en zonas sin personal (quirófanos o salas de manipulación de material en estéril) o en sistemas de desinfección de agua en cerrado perfectamente calibrados para que el flujo permita un contacto entre agua y radiación suficiente para su desinfección. Pueden tener interés en las zonas de manipulación de ALC para disminuir la carga microbiológica ambiental, siempre y cuando se garantice mediante mecanismos de seguridad apropiados que las fuentes de UVC no puedan funcionar mientras haya personal dentro de la sala.

ANEXO 4. Zonificación higiénica y Monitoreo ambiental

El monitoreo ambiental se utiliza para verificar que los programas de control diseñados para minimizar de forma significativa o evitar la contaminación de ALC con patógenos ambientales, funcionan adecuadamente. El Programa de limpieza y desinfección no puede ser el único control necesario para prevenir la recontaminación de ALC, especialmente cuando se elaboran en una misma instalación, los alimentos listos para el consumo y los crudos.

El primer paso para comprender la actividad de los patógenos ambientales es entender cómo se comportan los microorganismos en un ambiente alimentario. A grandes rasgos, existen dos tipos básicos de contaminantes: microorganismos esporádicos y microorganismos persistentes.

Los *microorganismos esporádicos* pueden ingresar a las instalaciones a través de ingredientes, materias primas, personal u otros elementos, es decir, "hacen auto-stop". Las actividades normales de limpieza y desinfección deberían eliminar las cepas esporádicas, de modo que no subsistan ni se establezcan en las instalaciones alimentarias. Aún con buenos programas de limpieza y desinfección, las cepas transitorias aparecen de vez en cuando en este tipo de establecimientos y pueden detectarse en ciertas ocasiones a través de análisis, lo que es previsible.

Por otra parte, los *microorganismos persistentes* se establecen en el entor-

no de procesamiento de los alimentos. Se albergan en rincones y grietas, los llamados nichos o refugios ambientales, y subsisten durante largos periodos de tiempo. Estos nichos son difíciles de limpiar, por lo que una cepa residente puede formar una colonia que contamine los alimentos de forma regular.

El objetivo de la zonificación higiénica es reducir las posibilidades de que un organismo transitorio ingrese en áreas sensibles dentro de las instalaciones, como son las áreas de envasado en las que los productos listos para el consumo se ven expuestos al ambiente.

Los objetivos de un programa de monitoreo ambiental son:

- 1) verificar que los planes de zonificación higiénica son eficaces y
- 2) detectar nichos o refugios ambientales, a fin de aplicar medidas correctivas para eliminar las cepas residentes.

Esto requiere aplicar estrictas prácticas de limpieza y desinfección y comprender la importancia de establecer un plan riguroso de muestreo para detectar cepas persistentes.

La necesidad y el alcance de la zonificación y el monitoreo ambiental depende del producto. Por ejemplo, las necesidades de una panificadora son muy diferentes de las de una instalación alimentaria frigorífica de productos listos para el consumo o de las de una industria de alimentos enlatados.

Cada instalación debe determinar la necesidad y el alcance de un programa de zonificación higiénica y el monitoreo ambiental, con base en el riesgo potencial de sus productos. La evaluación debe tener en cuenta la estructura, el personal, los flujos de movimiento de ingredientes y envases y cualquier causa de contaminación cruzada.

También se deben considerar posibles contaminantes presentes en la materia prima, el flujo de aire, las áreas de apoyo y las actividades que se llevan a cabo en las instalaciones. La zonificación puede implementarse en una instalación con fines de seguridad alimentaria o de calidad (por ejemplo, controlar la contaminación con mohos).

Se pueden tener en cuenta las siguientes preguntas para determinar si una zonificación y un monitoreo ambiental resulta útil en una instalación:

1. ¿La formulación del producto tiene una propiedad intrínseca que mata al patógeno ambiental en cuestión?

Si una propiedad intrínseca elimina patógenos ambientales (por ejemplo, los altos niveles de acidez que presentan las salsas a base de vinagre), puede que la situación no necesite la implementación de un monitoreo ambiental. Se necesitará validar la efectividad de dichas propiedades intrínsecas para asegurar que efectivamente controlan el patógeno.

2. ¿El producto o ingrediente está asociado con la contaminación por patógenos?

La posibilidad de que un patógeno se establezca en el entorno de procesamiento aumenta cuando un ingrediente tiene antecedentes de contaminación por patógenos. *Salmonella* tiene antecedentes de haber causado contaminación ambiental en alimentos de baja humedad como cereales, frutos secos, especias, hierbas secas, leche en polvo y chocolate. *Listeria monocytogenes* suele asociarse con brotes en alimentos listos para el consumo, especialmente en aquellos que son refrigerados.

3. ¿El producto recibe un control de procesos validado, diseñado para eliminar patógenos ambientales?

Un control de procesos validado, tal como la cocción, reduce el riesgo.

4. ¿El producto está expuesto al ambiente después del paso de destrucción de microorganismos y antes de ser envasado?

Si el producto no envasado queda expuesto después de la cocción, aumenta el riesgo de recontaminación. La manipulación de los alimentos listos para el consumo expuestos debe realizarse en entornos con normas de higiene más estrictas, con un monitoreo ambiental periódico que verifique que los controles de higiene son adecuados para minimizar la posibilidad de que se produzca una recontaminación del producto con patógenos ambientales.

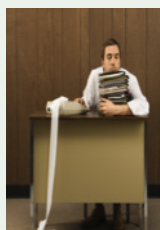
5. ¿Se utilizan ingredientes listos para el consumo para producir alimentos listos para el consumo?

En algunos casos no existe un paso de destrucción de microorganismos cuando se añaden ingredientes ya listos para consumo en ALC, por ejemplo especias en un embutido curado.

Del mismo modo que con los productos expuestos al ambiente tras el paso de destrucción, es necesario un mayor control de la higiene para reducir el riesgo de contaminación con patógenos ambientales.

6. ¿Un producto refrigerado listo para el consumo propicia el desarrollo de *Listeria monocytogenes*?

Por lo general los brotes de *L. monocytogenes* afectan a aquellos alimentos que propician la proliferación del organismo y no olvidemos que *Lm* es capaz de reproducirse a temperaturas de refrigeración. Las medidas sanitarias que reducen su incidencia en el ambiente son esenciales para evitar la contaminación ambiental de estos productos. El monitoreo ambiental se utiliza para verificar que las medidas higiénicas sean adecuadas para mantener un ambiente que no contribuya de manera significativa a la contaminación del producto. Muchos establecimientos realizan pruebas de *Listeria* spp., como indicador de *L. monocytogenes*.



Áreas donde no se elaboran alimentos

Taller de mantenimiento, oficinas, áreas de empleados, eliminación de residuos



Áreas de transición

Salas de ingreso, vestuarios que dan paso a zonas de BPM, etc.



Áreas básicas de BPM

Productos crudos, recepción y almacenamiento



Áreas de control de patógenos primarios - ACCESO CONTROLADO

Productos cocidos, pasteurizados o RTE (listos para el consumo) expuestos al ambiente



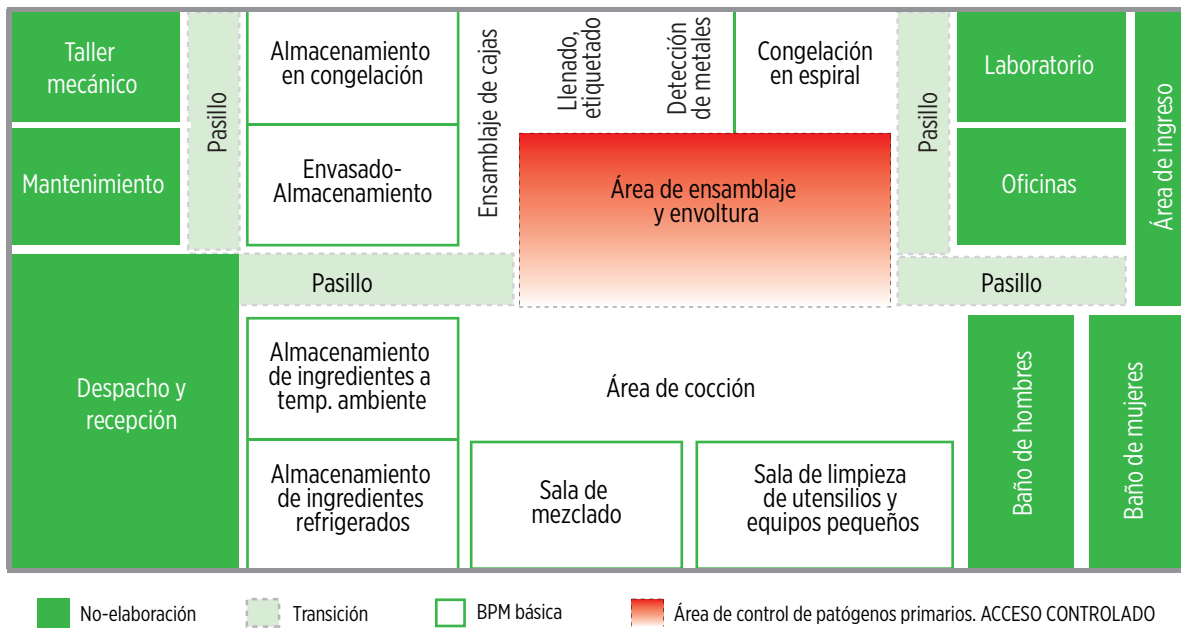
Áreas sensibles / de alto nivel de higiene - ACCESO RESTRINGIDO

Productos para población sensible como por ejemplo, lactantes

Resulta útil definir los requerimientos de higiene de cada área con base en el riesgo de contaminación del producto. En este sentido, es importante identificar:

- Las áreas donde no se elaboran alimentos, incluidas las de mantenimiento, oficinas y zonas para empleados como los comedores. Las personas que trabajan en estas áreas deben comprender que en otras zonas de las instalaciones se aplican requerimientos sanitarios más estrictos y que deben cumplir con dichos requerimientos cuando entran en ellas.
 - Las áreas de transición, que pueden incluir una entrada (o puerta), vestuarios o áreas similares que dan paso a áreas básicas de procesamiento. En estas áreas de transición deben estar disponibles batas, las redecillas, el calzado y otro equipo personal exigido antes de entrar en las áreas de procesamiento. Se deberá colocar una lista de requisitos antes de entrar y se debe considerar la colocación de lavamanos, lavado de pies con espuma, etc., según corresponda para evitar la contaminación de las instalaciones.
 - Las áreas básicas de procesamiento, que incluyen las áreas de recepción y almacenamiento de productos crudos y las de manipulación general de alimentos, deben mantenerse limpias para que cumplan con los requisitos básicos de las buenas prácticas de fabricación. Es necesario separar las áreas y los utensilios empleados en la manipulación de ingredientes crudos de aquellos utilizados para manipular productos cocidos o pasteurizados, a fin de evitar la contaminación cruzada.
- Esto incluye la implementación de un sistema de flujo y tráfico lineal del producto, ya sea a pie, en carretilla, auto elevadora u otros medios, para evitar la contaminación cruzada. Si una instalación tiene áreas de contacto cruzado que no pueden separarse por problemas de diseño, se deberá prestar especial atención a los controles preventivos para evitar una contaminación cruzada accidental.
- Las áreas de control de patógenos primarios son aquellas en las que los productos cocidos, pasteurizados o listos para el consumo se ven expuestos al ambiente, como por ejemplo las áreas de envasado de dichos productos. En estas áreas se deberán aplicar medidas sanitarias más estrictas para minimizar la posibilidad de contaminación cruzada. El control de acceso del personal (por ejemplo, mediante uniformes identificados por color, calzado especial, etc.) y equipo específicamente dedicado como carretillas o auto elevadoras también puede resultar útil para evitar que los contaminantes ambientales realicen "auto-stop" y lleguen a un espacio más sensible.
 - Las áreas sensibles/de alto nivel de higiene, incluyen áreas que producen alimentos para poblaciones sensibles, como los lactantes, y alimentos utilizados en contextos clínicos.

Ejemplo de mapa de zonificación higiénica



Preventive Controls for Human Food. Food Safety Preventive Controls Alliance FSPCA. First edition 2016.

Resulta útil colocar en un lugar visible un mapa de las instalaciones codificado por color, para diferenciar las diferentes zonas higiénicas y mostrar los flujos de tráfico correctos, a fin de fortalecer la zonificación y el cumplimiento. Un mapa con estas características puede utilizarse para orientar a los nuevos empleados y los visitantes y recordarle a todos la necesidad de minimizar la contaminación cruzada. Se deben implementar controles para el acceso y la entrada a áreas de procesamiento con higiene controlada, definir y establecer como obligatorio el uso de indumentaria adecuada para cada área de la instalación y determinar quién puede ir dónde y los requisitos para la entrada. Por ejemplo, ¿deben utilizar mascarillas para entrar a áreas sensibles? ¿O bien calzado especial?. Las imágenes en carteles son los métodos más eficaces.

Monitoreo Ambiental

Los objetivos principales del monitoreo ambiental son verificar y confirmar la eficacia de los programas de limpieza y desinfección y de zonificación higiénica y llevar a cabo actividades que mejoren los controles. El monitoreo ambiental resulta útil cuando el ambiente debe ser controlado para prevenir la contaminación microbiana y siempre que la realización de pruebas sea beneficiosa para verificar el control del patógeno en cuestión.

Un programa eficiente de monitoreo ambiental realiza un programa proactivo de encontrar el patógeno indicador en cuestión, de modo tal que las correcciones pueden realizarse antes de que el producto se vea afectado y de que se pueda evaluar la eficacia de las intervenciones.

Por ejemplo, un programa robusto de monitoreo ambiental puede ayudar a detectar la presencia de patógenos de nicho y a diferenciarlos de las cepas transitorias. Esto sirve para determinar cómo se debe reaccionar ante su detección. Es esencial implementar una cultura que aplique una política permanente de “buscar y destruir” aplicada al monitoreo ambiental.

Un programa de monitoreo ambiental debe diseñarse específicamente para las instalaciones y debe considerar los productos que allí se elaboran, los ingredientes utilizados, cualquier antecedente de patógenos ambientales y otros factores relevantes.

La toma de muestras es sesgada, lo que significa que los sitios de obtención de muestra son los casos más problemáticos y que se trata de identificar áreas con dificultades y no de implementar un programa aleatorio de toma de muestras dirigido a identificar la situación “promedio”. Esto puede parecer de riesgo al principio, y algunos podrán cuestionarlo diciendo “¿por qué debo intentar encontrar un patógeno ambiental en mi establecimiento?”. La respuesta es: porque usted tiene más posibilidades de encontrar un patógeno potencial en el ambiente antes de hallarlo en el producto, lo que puede evitar una retirada del mercado de amplio alcance o, lo que es peor, un brote. Investigaciones sobre varios casos de brotes indican que el ambiente de las instalaciones fue la fuente de las cepas involucradas en ellos.

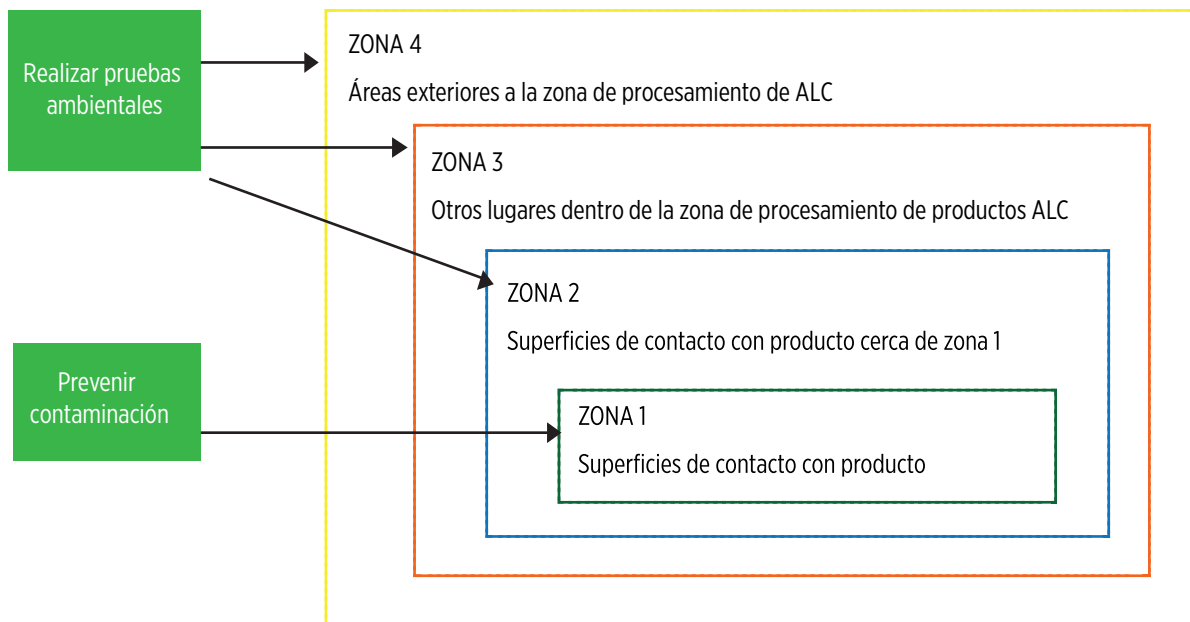
Salmonella sobrevive muy bien en ambientes secos. Cuando se introduce agua en el alimento y hay disponibili-

dad de nutrientes (por ejemplo, alimentos en polvo), *Salmonella* puede multiplicarse, aumentando así las posibilidades de que sea transportada a otra área por la humedad o por la contaminación de un objeto móvil o de una persona. Los brotes de *Salmonella* en los que se sospecha la intervención de la contaminación ambiental se han asociado con ciertos productos alimenticios secos, como mezclas para preparar productos panificados, mantequilla de maní, frutos secos y cereales de desayuno. Es por esto que muchas veces es necesario realizar vigilancia ambiental para detectar posibles casos de *Salmonella* en numerosos entornos de procesamiento de alimentos listos para el consumo y de baja humedad.

Los brotes de *Listeria monocytogenes* se asocian con productos refrigerados listos para el consumo, por lo que se requieren frecuentes muestreos ambientales para detectar una posible contaminación. El monitoreo de *Listeria* spp., se utiliza como prueba más general en algunos establecimientos, ya que resulta más fácil detectar un posible problema. Sin embargo, analizar el ambiente para detectar la presencia de *L. monocytogenes* puede resultar adecuado en algunas instalaciones.

Teniendo en cuenta que el objetivo del monitoreo ambiental es detectar posibles fuentes de contaminación, la toma de muestras suele enfocarse en áreas de mayor riesgo. Se tomarán muestras más frecuentemente en las áreas de control de patógenos primarios.

Ejemplo de zonificación higiénica



Dentro de cada área se utiliza el término “zonas” para la ubicación exacta de la toma de muestras.

La zona 1 representa las superficies de contacto con alimentos, tales como contenedores, cintas transportadoras, utensilios e incluso las manos que tienen contacto directo con el alimento.

La zona 2 incluye áreas adyacentes a las superficies de contacto con alimentos y se les suele llamar superficies de contacto indirecto con los productos. Algunos ejemplos son los soportes, los paneles del equipo o los delantales.

La zona 3 incluye todos los otros elementos dentro del área de producción o procesamiento (suelos, paredes, techos, rejillas y otros equipos).

La zona 4 abarca el resto de las áreas de las instalaciones no dedicadas a la producción, como pasillos, talleres de mantenimiento y áreas de descanso de los empleados.

Una buena práctica implica que el monitoreo debe concentrarse en las zonas 2, 3 y 4. Dado que suelen contaminarse más a menudo, el muestreo en estas zonas aumenta las probabilidades de detectar una posible fuente de contaminación antes de que sea hallada en el producto. La detección y la corrección tempranas ayudan a evitar la contaminación de superficies/áreas de contacto con el producto (zona 1). La toma de muestras en la zona 1 es poco frecuente, pero de realizarse, se deberá retener el producto hasta asegurarse de que los resultados son negativos, para evitar una posible retirada del alimento del mercado.

El personal debe recibir formación para realizar la toma de muestras ambientales y utilizar su criterio para decidir cuándo tomar medidas diferentes del plan original con base en observaciones o acontecimientos especiales. Con las herramientas correctas se pueden

tomar muestras en rendijas, grietas, áreas elevadas, áreas extensas de suelo, sumideros.

Prepare un mapa de las instalaciones con todas las cuadrículas marcadas. Determine una lista de sitios en las instalaciones. Asegúrese de que cada vez se tomen más muestras en las zonas 2 y 3 y algunas de la zona 4.

Tome muestras durante la producción, al menos tres horas después de iniciado el proceso. Las muestras pueden ser compuestas para ahorrar costes, tomando muestras individuales de cada sitio y combinándolas para formar una muestra compuesta. No utilice la misma esponja en múltiples sitios de muestreo, ya que esto puede dispersar una posible contaminación.

Aumente la cantidad de muestras tomadas cuando se trata de agua, áreas de refugio de microbios o de mucho tráfico con más probabilidades de constituir una fuente de contaminación debido a las condiciones de infraestructura de la planta y el equipo. La desinfección del sitio después del muestreo se considera una buena práctica.

La detección de un patógeno en una muestra obtenida en la zona 1 exige tomar medidas inmediatas, ya que pone en duda la seguridad del producto producido en esa línea. Si esto ocurre, se recomienda evaluar los datos recabados con el paso del tiempo, las prácticas de limpieza y desinfección y otros factores pertinentes para determinar si se desecha el lote.

A fin de monitorear los indicadores se deben establecer los niveles de acción y objetivos después de determinar los niveles base. Resulta difícil interpretar

resultados si no existe una base para la comparación. Existen instalaciones que fabrican el mismo producto pero tienen perfiles muy diferentes. Por lo general la recolección de datos de niveles base supone una toma de muestras muy frecuente durante un periodo determinado y su fin es capturar una “instantánea” de lo que constituye una operación estable o de rutina.

Se pueden recabar datos en tandas para cubrir la variabilidad estacional. De no tomar muestras en todos los sitios cada vez que se realiza la actividad, se puede implementar un sistema de rotación. En vista de que el objetivo del programa es identificar de forma proactiva fuentes potenciales de contaminación, se recomienda tomar muestras en los peores escenarios o condiciones observados, como por ejemplo, agua estancada, goteras en los techos, restos de producto, etc.

Se puede aumentar la frecuencia del muestreo durante los meses iniciales del programa para lograr una mejor implementación de la norma en las instalaciones, tomando en cuenta factores como estacionalidad, condiciones del tiempo, instalaciones adyacentes y cambios en el personal.

Se considera una excelente práctica un enfoque de tres etapas:

- 1) muestreo de rutina (con enfoque en alto riesgo),
- 2) muestras para investigación y
- 3) muestreo de seguimiento para confirmar la eficacia de las medidas correctivas.

La frecuencia con la que se recaban los datos puede aumentar o disminuir de acuerdo con un análisis de los datos históricos de las instalaciones, y del riesgo del producto.

El hallazgo de una muestra ambiental positiva es una oportunidad de investigar y ver si algo ha fallado en el programa de control. Tenga en cuenta que algunos resultados positivos son por microorganismos transitorios y, por ende, no requieren ningún cambio. Por otra parte, algunos resultados positivos exigen tomar medidas para evitar la contaminación del producto.

Una buena investigación se logra combinando observación, inspección y muestreo intensivo. Si la muestra positiva era compuesta, entonces vuelva a tomar muestras de toda el área. Estas muestras se analizan individualmente para identificar y aislar el área con problemas. Además de reanalizar, observe el equipo (montado y desarmado), el proceso, el personal y la limpieza y la desinfección para descubrir factores que puedan haber contribuido a la contaminación. También es importante observar el flujo de materiales para determinar si los flujos cruzados constituyen un problema.

Partiendo de la investigación, pueden ser necesarios cambios en los procedimientos. En ocasiones las acciones correctivas pueden focalizarse en un nicho de las instalaciones o en equipo que debe ser retirado, reparado o limpiado. Pueden requerirse también nuevos procedimientos y se deberá capacitar al personal con respecto a estos cambios.

Una vez realizadas las correcciones necesarias, se deberá realizar una limpieza y una desinfección profundas. Se confirmará después su eficacia a través de una toma de muestras intensiva y repetida durante un periodo extenso. Tome nuevas muestras cubriendo un amplio espectro tras de la limpieza y la desinfección, durante las operaciones, en los cambios de turno y en periodos inactivos durante un tiempo prolongado.

Si después de un suceso positivo se obtienen numerosas muestras positivas, la medida correctiva no está funcionando de forma eficaz. Esto puede deberse a la presencia de un refugio o nicho que no ha sido descubierto o eliminado. Revise toda la instalación, el equipo y los controles operativos para asegurarse de que se han tomado todas las medidas a su alcance.

Las goteras en el techo, los acúmulos en las rejillas del suelo de las áreas de producto expuesto, las obras de construcción o la instalación de equipos y la transición entre áreas de construcción y producción pueden aumentar la prevalencia de patógenos ambientales. Deben implementarse procedimientos para proteger las áreas de procesamiento y al producto durante este tipo de sucesos.

En situaciones relacionadas con goteras o entrada de agua en entornos secos se recomienda el monitoreo ambiental para detectar la posible presencia de *Salmonella*. Es útil tomar estas muestras inmediatamente después de limpiar, ya que este representa probablemente el peor de los escenarios. Si no se detecta *Salmonella* en estas muestras, puede que el ambiente no se vea afectado.

Sin embargo, si se detecta el organismo, se deberán tomar acciones inmediatas para desinfectar el área sin utilizar agua de forma extensiva, ya que de lo contrario podría empeorar la situación.

Durante periodos de construcción deben evaluarse los patrones de tráfico para minimizar posibles fuentes de contaminación. El polvo y el tráfico deben controlarse en caso de reformas o remodelaciones. Al finalizar las actividades de construcción, el área deberá limpiarse y desinfectarse y se deberán tomar muestras antes de retomar la producción. Para verificar el restablecimiento de los controles, se deben realizar monitoreos ambientales adicionales después de realizar estas actividades.

Análisis de tendencias

Se considera una buena práctica el control y la elaboración de tendencias de monitoreo ambiental. Los resultados presentados en un formato práctico maximizan el valor de los datos. Por ejemplo, una hoja de cálculo puede ayudar a identificar tendencias de monitoreos de rutina o intensivos. Un mapa de las instalaciones también puede ser utilizado para mostrar la ubicación de los positivos y determinar si se ubican en el mismo lugar, lo que podría indicar un nicho ambiental.

Ejemplo de vigilancia de resultados

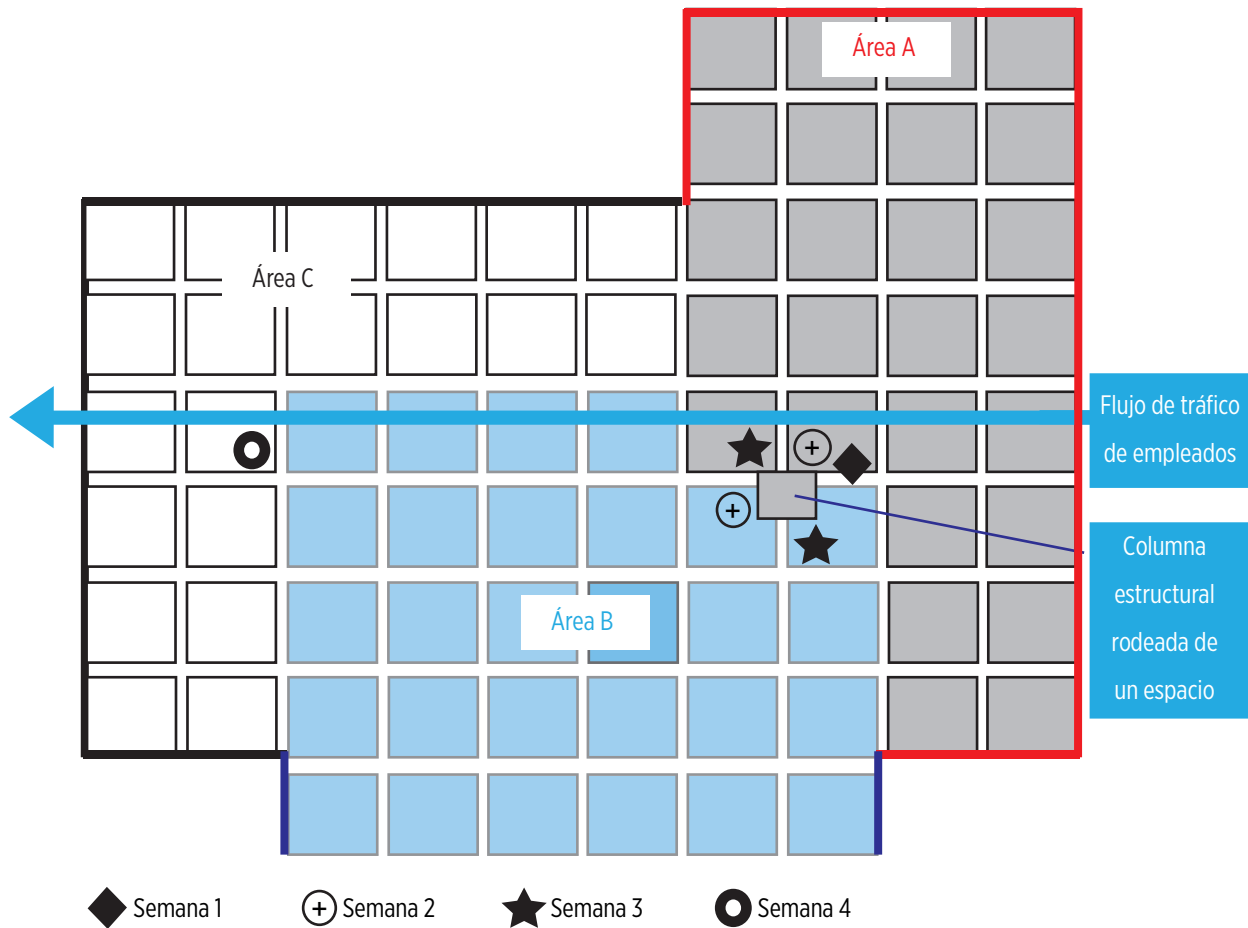
Semana	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Total
Área A	1/25*	0/25	1/25	1/25	3/100
Área B	0/25	1/25	1/25	0/25	2/100
Área C	0/25	0/25	0/25	1/25	1/100

*Número de muestras positivas / Número de muestras tomadas

NOTA: Los números representados son hipotéticos. Algunos establecimientos toman más muestras por semana, otros menos. Esto podría representar muestras obtenidas para establecer una línea base o identificar el posible origen de un problema identificado con una toma de muestras de rutina menos intensiva.

Preventive Controls for Human Food. Food Safety Preventive Controls Alliance FSPCA. First edition 2016.

Mapa de áreas y muestras positivas



Preventive Controls for Human Food. Food Safety Preventive Controls Alliance FSPCA. First edition 2016.

Reúna la información de todas las fuentes de datos que tenga disponibles y luego reconstruya lo que estaba ocurriendo cuando se tomaron las muestras. Quizás esto conlleve analizar cronogramas de producción, cronogramas de desinfección, registros de visitas y otras fuentes de información, para determinar si ocurrió algo fuera de lo común. Con base en la información recabada, identifique una fuente potencial de contaminación,

luego confirme sus sospechas a través de observación adicional o recolección de datos. Es importante documentar la conclusión de la investigación, la causa raíz y tomar las medidas correctivas para solucionar el problema. El objetivo final debe ser identificar una causa que tenga sentido, de acuerdo con la información disponible, luego tomar medidas y demostrar que las medidas fueron eficaces.

Los resultados negativos son buenos hasta cierto punto, ya que pueden crear una falsa sensación de seguridad. La mayoría de las instalaciones detectan patógenos ambientales de vez en cuando, y suelen ser cepas transitorias. Si los resultados de los monitoreos ambientales son siempre negativos, pregúntese por qué lo son.

Recuerde, los análisis no son un "control"; los resultados positivos también pueden ser buenos ya que uno puede tomar medidas antes de que se detecte el patógeno en un producto.

Los programas de monitoreo ambiental deben analizarse y actualizarse al menos una vez al año. Si se cuenta con un programa robusto, las modificaciones se realizan cuando así se requiera, por ejemplo, cuando resultan de las medidas correctivas y cuando se producen cambios en los ingredientes, los procesos o el equipo. Si nunca se obtienen resultados positivos y esto no es lo esperable, ello puede significar que el programa no está siendo gestionado con una actitud proactiva de buscar y destruir.

Anexo 5. Recomendaciones para realizar los estudios de vida útil preceptivos en relación con *Listeria monocytogenes*

Con la finalidad de ayudar a las empresas y a los laboratorios especializados, en la determinación de la durabilidad de los productos han sido publicadas, tras su adopción, en diciembre de 2008, por el Comité Permanente de la Cadena Alimentaria y Sanidad Animal, en la Dirección General de Sanidad y Consumo de la Comisión europea, dos documentos guía:

- Guía para la realización de estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes*, conforme al Reglamento (CE) nº 2073/2005.
- Documento guía técnico sobre estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo (CRL *Lm* Guide).

Además recientemente se ha publicado por la AESAN 2019:

- “Documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo”. AESAN 2019.

Los fabricantes de alimentos listos para el consumo tienen la obligación legal de realizar estudios de vida útil para *Listeria monocytogenes* tal y como establece el Artículo 3, apartado 2 del Reglamento CE nº 2073/2005: “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 *Lm* y puedan suponer un riesgo para la salud pública en relación con dicha bacteria”.

En la tabla 6 se recogen los estudios mencionados en el citado Reglamento, aunque hay que tener en cuenta que, en general, la duración de la vida útil de los alimentos se suele establecer combinando las informaciones procedentes de las distintas fuentes.

Tabla 6. Estudios para investigar el cumplimiento de los criterios (Anexo II del Reglamento (CE) nº 2073/2005)

Características del producto y bibliografía científica
<p>Especificaciones de las características fisicoquímicas del producto, como pH, aw, contenido de sal, concentración de conservantes y tipo de sistema de envasado, teniendo en cuenta las condiciones de almacenamiento y transformación, las posibilidades de contaminación y la vida útil prevista.</p> <p>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.</p>
<p>Estudios complementarios: tendrán en cuenta la variabilidad inherente al producto, los microorganismos en cuestión y las condiciones de transformación y almacenamiento.</p>
<p>Modelos matemáticos de pronóstico establecidos para el alimento de que se trate, utilizando factores críticos de crecimiento o supervivencia aplicables a los microorganismos en cuestión presentes en el producto.</p> <p>Pruebas para investigar la capacidad que tiene el microorganismo en cuestión, adecuadamente inoculado, para crecer o sobrevivir en el producto en diferentes condiciones de almacenamiento razonablemente previsibles.</p> <p>Estudios para evaluar el crecimiento o supervivencia de los microorganismos en cuestión que puedan estar presentes en el producto durante su vida útil en condiciones razonablemente previsibles de distribución, almacenamiento y utilización.</p>

La determinación de la duración de la vida útil es muy importante para la seguridad microbiológica de los alimentos listos para el consumo, en especial en aquellos alimentos en los que puede producirse crecimiento de *L. monocytogenes*.

Las empresas fabricantes de alimentos listos para consumo deberán llevar a cabo estudios de vida útil y la revisión de sus planes APPCC en las siguientes circunstancias (UE, 2008):

- Desarrollo de alimentos nuevos o modificados.
- Desarrollo de procesos nuevos o modificados.
- Desarrollo de nuevos envasados.
- Cualquier cambio significativo en los ingredientes y/o el envasado de los alimentos existentes.

- Cambios en las instalaciones e en los equipos de producción.
- Cuando no se han realizado estudios previos de vida útil.

La empresa alimentaria es responsable de establecer la vida útil en unas condiciones definidas, las cuales deberían tener en cuenta las condiciones razonablemente previsibles de distribución, almacenamiento y uso.

Una parte importante de estas condiciones previsibles es la temperatura de almacenamiento durante toda la vida útil, y en consecuencia, se debe(n) justificar la(s) temperatura(s) elegida(s) para el estudio de vida útil.

Como norma, el uso de temperaturas de almacenamiento demasiado bajas para establecer la vida útil, en comparación con las temperaturas reales de la

distribución y uso, puede conducir a una subestimación del crecimiento microbiano, incluida *L. monocytogenes*, y a una consecuente sobreestimación de la duración de la vida útil.

Si la empresa desconoce las temperaturas reales de almacenamiento del producto en cuestión, puede aplicar, p. Ej., 8-12°C como temperatura de almacén en los estudios de vida útil. No obstante, las empresas alimentarias deben justificar qué temperaturas utilizan para establecer la vida útil, teniendo en cuenta datos de temperaturas durante la distribución y el almacenamiento por los consumidores.

En la práctica, el establecimiento de la vida útil se considera parte del sistema APPCC del fabricante, y tiene en cuenta:

- los controles sobre los proveedores que garanticen la calidad de las materias primas y la tendencia de los resultados de los controles de materias primas,
- la confianza en los controles de las Prácticas Correctas de Higiene aplicados en el ambiente de fabricación, reflejados en los resultados del muestreo de superficies y equipos de procesado, la experiencia del fabricante con productos similares,
- la velocidad de deterioro microbiológico y el mantenimiento de la calidad.

La duración de la vida útil es parte integral de la seguridad del producto, y para valorar si ésta es segura, resulta crítica la identificación de patógenos

relevantes, incluida *L. monocytogenes*, en las materias primas y en el ambiente de producción.

Es importante recordar que las desviaciones de las condiciones normales, tales como un elevado nivel de contaminación inicial de las materias primas, temperaturas demasiado elevadas durante el almacenamiento y el transporte, o una vida útil demasiado larga, podrían tener un impacto negativo significativo sobre la seguridad del producto.

El objetivo de los estudios de vida útil para *L. monocytogenes* es demostrar que el alimento listo para el consumo cumple con el límite del criterio de seguridad alimentaria establecido para este patógeno a lo largo de toda su vida útil.

La determinación de la vida útil microbiológica de los productos alimenticios siempre debe incluir la consideración de diferentes factores, tales como: sector alimentario, tipo de producto y tipo de proceso. La variabilidad inherente de los lotes fabricados y la variabilidad ligada a las especies de *L. monocytogenes* también debe tenerse en cuenta, así como todas las condiciones razonablemente previsibles durante la distribución, el almacenamiento y el uso, incluidas aquellas aplicadas por los consumidores.

La demostración del cumplimiento y los estudios de vida útil pueden realizarse de diversas maneras, comenzando por comparar las características del producto con la bibliografía científica disponible.

Se necesitan estudios complementarios cuando la comparación de las características del producto con la bibliografía científica disponible u otros datos no permite proporcionar suficiente información para apoyar la evaluación de la vida útil. Estos estudios pueden incluir microbiología predictiva, el uso del histórico de datos adecuado o la realización de pruebas de laboratorio específicas, como los estudios de durabilidad y los ensayos de desafío. Cada una de estas herramientas tiene ventajas e inconvenientes, y pueden combinarse entre sí cuando sea necesario.

El cuadro 1 contiene un árbol de decisiones que muestra un planteamiento esquemático de los pasos a seguir para aplicar los estudios de vida útil. El árbol también indica a las empresas alimentarias cuando son necesarios estudios complementarios específicos (p. Ej., estudios de durabilidad o ensayos de desafío) con el fin de investigar el crecimiento (potencial) de *L monocytogenes* en el alimento.

Para confirmar el mantenimiento de la vida útil definida para cada producto, es necesaria la vigilancia continua y la verificación de la misma.

1. Evaluación de la vida útil combinando diferentes herramientas

Se pueden distinguir dos tipos de planteamientos: el planteamiento del caso único y el planteamiento basado en el riesgo.

El planteamiento del caso único considera que, en el caso de contaminarse, el alimento contiene inicialmente un número dado de células bacterianas, que este alimento tiene unas características fijas y que se almacena en condiciones estáticas. En general, este enfoque proporciona información limitada e inadecuada, ya que estas condiciones no tienen en cuenta la variabilidad natural de los parámetros que pueden tener un impacto en la contaminación al final de la vida útil.

De hecho, la contaminación por *L monocytogenes* puede tener distintas evoluciones de acuerdo con:

- El nivel de contaminación inicial (concentración inicial alta o baja).

- El estado fisiológico de las células contaminantes (estrés bacteriológico resultante en un mayor o menor periodo de latencia).
- La capacidad de crecimiento de la cepa bacteriana contaminante del alimento
- Las características del alimento (variabilidad de pH y actividad de agua dentro de un mismo lote y entre lotes diferentes), y
- Las condiciones de almacenamiento desde la distribución hasta el frigorífico doméstico.

Este planteamiento puede conducir a establecer una vida útil:

- Demasiado corta en el “peor escenario posible”, es decir, cuando las hipótesis del estudio son excesivamente cautelosas (contaminaciones muy elevadas, cepas de crecimiento más rápido, ausencia

de fase de latencia, alimento que más favorece el crecimiento, temperaturas de conservación muy altas), o

- Por el contrario, demasiado larga e insegura, p. Ej., cuando no se tienen en cuenta las condiciones razonablemente previsibles de distribución, almacenamiento y uso.

En cualquier caso, este enfoque puede ser suficiente para demostrar que, “en el peor escenario posible”, el alimento cumplirá con el límite al final de su vida útil. Por tanto, la empresa puede estimar la contaminación final máxima al final de la vida útil, cuando la contaminación inicial es máxima, con un máximo potencial de crecimiento y en las peores condiciones de almacenamiento.

Documentación de los estudios de vida útil

La empresa debe conservar la documentación de los estudios de vida útil y sus verificaciones como parte de las prácticas correctas de higiene y los procedimientos APPCC.

La documentación debe incluir todos los datos necesarios que se hayan empleado para determinar la vida útil (características del producto, bibliografía científica usada, tipos y resultados de otros estudios de vida útil).

Características del producto y bibliografía científica

Dependiendo de cada situación, estos estudios pueden ser suficientes para evaluar el riesgo de los microorganismos patógenos; p. Ej., si el pH o la actividad de agua de un alimento no permiten el crecimiento de un patógeno, la duración de la vida micro-

Si la contaminación máxima estimada no excede el límite, la vida útil se puede considerar segura. Por el contrario, si la contaminación máxima estimada excede el límite, se debe acortar la vida útil, o la empresa debe valorar la probabilidad de que esta vida útil supere el límite y valorar si esta probabilidad es o no aceptable. En este caso, se debe usar el planteamiento basado en el riesgo para estimar la distribución de la contaminación al final de la vida útil para todas las condiciones razonablemente previsibles. La empresa también debería considerar mejorar las condiciones higiénicas de las instalaciones y/o el estado microbiológico de los ingredientes, junto con la re-evaluación de la vida útil.

Es esencial que esta documentación esté disponible de forma inmediata, con el fin de que la empresa pueda demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que sus alimentos listos para el consumo cumplen con el Reglamento comunitario hasta el final de su vida útil. La empresa puede decidir el formato de esta documentación.

biológica concernirá a la higiene y no a seguridad de los alimentos.

Se contemplan dos tipos de estudios obligatorios iniciales:

- a. Características físico-químicas
- b. Bibliografía científica

Características físico-químicas

Para determinar la vida útil de un ALC, es importante considerar si el alimento puede favorecer la supervivencia o el crecimiento de *L. monocytogenes*, lo que dependerá de las características intrínsecas y extrínsecas del alimento:

1. Características intrínsecas:

- pH
- aw
- Contenido en sal
- Concentración de sustancias antimicrobianas
- Humedad
- Tipo de ácido presente
- Potencial Redox
- Contenido nutricional y disponibilidad
- Disponibilidad de oxígeno
- Estructura biológica (sólido, líquido)
- Microflora natural o artificial presente en el alimento

2. Características extrínsecas:

- APPCC
- Planes generales de higiene
- Procesado
- Humedad relativa
- Temperatura de almacenamiento
- Vida útil prevista: tiempo y temperatura de conservación

- Sistema de envasado: aire, vacío, atmósfera modificada.
- Prácticas de venta al por menor
- Prácticas del consumidor

Si no hay experiencia en la empresa para llevar a cabo estas determinaciones, se recomienda acudir a un centro de investigación o laboratorio especializado que ayude al procesador de alimentos a entender y conseguir la información necesaria (CFA, 2010).

Determinar las características del alimento permitirá averiguar si *Listeria monocytogenes* puede o no crecer en dicho alimento. De acuerdo a la información publicada en el Reglamento sobre criterios microbiológicos (UE, 2005), se puede considerar que un alimento no permite el crecimiento de *Listeria monocytogenes* si tiene las siguientes características intrínsecas:

- con $\text{pH} \leq 4,4$
- con $\text{aw} \leq 0,92$
- con $\text{pH} \leq 5,0$ y $\text{aw} \leq 0,94$
- con una vida útil inferior a 5 días.

No obstante en otros documentos y guías, se consideran valores de pH menores o iguales a 4,2 o 4,3 y actividades de agua menores o iguales a 0,90 como las condiciones bajo las cuales, *Listeria monocytogenes* no puede crecer en el alimento (FSAI, 2003) (UE, 2004) (UE, 2008) (CFA, 2010). Estas condiciones intrínsecas son algo más restrictivas que las publicadas en el Reglamento sobre criterios microbiológicos (UE, 2005).

Si estos parámetros se utilizan para demostrar que *Listeria monocytogenes* no puede crecer en ese alimento, entonces se deberían considerar como límites críticos a controlar como parte del sistema APPCC y no se necesitarán estudios posteriores de vida útil en relación a *Listeria monocytogenes*.

Bibliografía científica

Actualmente existe una amplia cantidad de datos sobre *Listeria monocytogenes* en libros, publicaciones científicas, universidades y centros de investigación públicos y privados. También hay datos disponibles en las distintas agencias nacionales, europeas o internacionales (por ejemplo, European Food Safety Authority).

Cuando el operador de alimentos ha establecido las características de su producto y las condiciones bajo las

Si hay una evidencia científica de que *Listeria monocytogenes* no puede crecer en el alimento debido a sus características fisicoquímicas (intrínsecas) se debe aplicar el límite de 100 ufc/g de *Listeria monocytogenes* a lo largo de la vida útil del alimento tal como indica la legislación.

cuales el producto será envasado y almacenado, debe compararlas con las que existen en la literatura científica respecto a la capacidad de supervivencia o crecimiento de *Listeria monocytogenes* o cualquier otro microorganismo patógeno. La Tabla 7 muestra algunos factores que limitan la supervivencia y crecimiento de *Listeria monocytogenes*.

Tabla 7 Límites para la supervivencia y el crecimiento de *L. monocytogenes*

Factores	Límite inferior	Puede crecer	Límite superior	Puede sobrevivir * (pero no 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 agua (aw)	0.90 a 0.93	0.99	> 0.99	< 0.90
Concentración de sal (%) ***	< 0.5	0.7	12-16	≥20
Atmósfera	Anaerobio facultativo (puede crecer en presencia y ausencia de oxígeno, p. Ej., en envases al vacío o en atmósfera modificada)	0/25	0/25	1/100

Adaptada de (FSAI, 2003) (UE, 2004, 2008).

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

** La inhibición de *L. monocytogenes* dependerá del tipo de ácido presente.

*** Basada en el porcentaje de cloruro sódico, fase acuosa.

Estudios complementarios

Si la comparación de las características del producto con la literatura científica relevante u otros datos, no permite tener garantías de que *Listeria monocytogenes* no puede crecer en el alimento, entonces es necesario llevar a cabo estudios adicionales que pueden incluir.

Se contemplan tres tipos de estudios (CFA, 2010):

1. Histórico de datos

1. Histórico de datos

Todas las empresas deben mantener registros incluyendo aquellos sobre la inocuidad de alimentos que se encuentran ya en el mercado. Esta información se denomina histórico de datos y corresponde a los registros específicos de los lugares de producción y alimentos, que se van acumulando a lo largo del tiempo.

Estos datos (incluyendo las comprobaciones en el producto final en el mismo día de la producción y final de la vida útil) se pueden usar como evidencia de que la concentración de *Listeria monocytogenes* en el alimento no excede el límite de 100 ufc/g. Los datos sobre los niveles de *Listeria monocytogenes* en alimentos ALC ya existentes se pueden usar para evaluar la posibilidad de crecimiento potencial y confirmar que la vida útil asignada al alimento es apropiada. También se pueden aplicar a alimentos ALC similares con características intrínsecas comparables, elaborados

2. Microbiología predictiva (modelos matemáticos)

3. Pruebas de laboratorio específicas:

3.1. Ensayos de desafío

3.1.1 Estudios para establecer el potencial de crecimiento

3.1.2 Estudios para establecer la velocidad máxima de crecimiento

3.2. Estudios de durabilidad

bajo prácticamente las mismas condiciones de proceso. Los datos a utilizar deben ser:

- Aquellos provenientes del APPCC y controles de seguimiento y deben incluir lo siguiente:
 - Certificados de conformidad de proveedores de ingredientes
 - Validación de procesos, verificación y seguimiento (temperatura, tiempo, pH, aw).
 - Pruebas de laboratorio de otros alimentos producidos por el operador generados durante un período de tiempo y que continúan siendo generados de manera continua (idealmente alimentos similares con características intrínsecas / extrínsecas comparables producidas en condiciones idénticas)
 - Trazabilidad de ingredientes y comprobación de la calidad microbiológica.

- Muestreo de especies de *Listeria* (incluidas las no patógenas) y de organismos indicadores de higiene apropiados en las distintas áreas de la industria procesadora y del equipo.
- Comprobación de presencia y cuantificación de *Listeria monocytogenes* en el producto acabado, por ejemplo en el mismo día de producción y al final de la vida útil, con ello se verifica el funcionamiento efectivo del APPCC y se verifica la durabilidad, pudiéndose validar la vida útil asignada.
- Registros de capacitación del personal.
- Registros de procedimientos de limpieza y saneamiento.
- Implementación de sistemas de gestión de calidad reconocidos.
- Aquellos provenientes de la evaluación de la vida útil. El nivel de confianza incrementa con la cantidad de datos disponibles en la empresa, por tanto cuantas mas unidades de producto se comprueben mayor será la fiabilidad del histórico de datos (UE, 2008). No obstante, no es posible recomendar una cantidad específica de datos ya que esta es una aproximación basada en el riesgo y depende de variaciones en el proceso de elaboración y naturaleza del alimento (CFA, 2010).

Las empresas alimentarias deben garantizar, a satisfacción de las autoridades competentes, que su histórico de datos es suficiente para demostrar que los alimentos listos para consumo no excederán el límite de 100 ufc/g durante la vida útil. Las autoridades competentes pueden requerir que estos datos se completen con otros estudios complementarios.

2. Microbiología predictiva (modelos matemáticos)

La microbiología predictiva puede ser una herramienta a tener en cuenta cuando es necesario llevar a cabo estudios adicionales para confirmar la vida útil que se ha establecido para un alimento.

La microbiología predictiva tiene como objeto predecir el comportamiento de los microorganismos en los alimentos durante su producción o almacenamiento.

En los últimos años se han producido avances significativos en este campo especialmente para estimar el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en alimentos. Hay varios programas de predicción de crecimiento microbiano disponibles para todas las empresas para ayudar en la determinación del crecimiento, tales como *ComBase*, *MicroHibro* (de la Universidad de Córdoba), *Growth Predictor* y *Pathogen Modelling Programme*.

En general, introduciendo factores intrínsecos clave del alimento (pH, aw o concentración de sal), y datos del proceso a un modelo microbiológico predictivo (programa de ordenador) es posible obtener una indicación del crecimiento potencial de un determinado microorganismo para el cual se desarrolló el modelo. No obstante, conviene señalar que los datos para construir modelos matemáticos se suelen obtener en experimentos llevados a cabo en el laboratorio, por consiguiente los modelos se deben validar frente a datos de supervivencia y crecimiento obtenidos en el propio alimento antes de su utilización.

Los modelos matemáticos predictivos pueden ser útiles en las siguientes aplicaciones (UE, 2008):

- Para predecir el crecimiento bacteriano en varias condiciones.
- Para predecir la probabilidad de crecimiento de los microorganismos en los alimentos.
- Para estimar el nivel de contaminación en un momento dado de la vida útil.
- Para estimar la variabilidad entre dos lotes.
- Para optimizar la formulación del alimento asegurando la mayor estabilidad.
- Para evaluar el impacto de la rotura de la cadena de frío y ensayar diferentes condiciones de almacenamiento.
- Para ayudar en la identificación de Puntos Críticos de Control en un proceso.

En relación al uso de los modelos matemáticos hay que tener en cuenta que muchos de ellos se han obtenido en medios líquidos, la mayoría de ellos homogéneos, con el fin de determinar el impacto de determinados factores medioambientales sobre los microorganismos. En estos casos puede que el modelo no haga buenas predicciones describiendo el comportamiento de los microorganismos en los alimentos, aunque el modelo haya sido validado en el alimento.

Otros modelos se han obtenido en los propios alimentos y pueden describir con bastante exactitud el comportamiento del microorganismo en un alimento específico durante el almacenamiento, sin embargo puede ser cuestionable la descripción del impacto de la variabilidad de las características fisicoquímicas del alimento o hacer predicciones para otros alimentos distintos al original.

Hay ocasiones en que las predicciones no son exactas debido a respuestas inconsistentes de los microorganismos o ligeras variaciones en el medio de cultivo.

En conclusión, aunque los modelos matemáticos predictivos proporcionan un medio poco costoso para minimizar el muestreo microbiológico en estudios de vida útil, se deben usar con precaución y solo por personal entrenado, con experiencia y conociendo las limitaciones y las condiciones de uso.

3. Estudios de laboratorio específicos

Adicionalmente se pueden llevar a cabo estudios específicos en el laboratorio para determinar el crecimiento de *Listeria monocytogenes*.

3.1 Ensayos de desafío

En general, estos ensayos solo se usan cuando otros métodos de evaluación de la inocuidad o estabilidad del alimento no se pueden llevar a cabo o no dejan suficientemente claro que *Listeria monocytogenes* no puede crecer en el alimento o existen dudas sobre la idoneidad de la vida útil establecida para dicho alimento. Los ensayos de desafío proporcionan información sobre el comportamiento de los microorganismos (*Listeria monocytogenes*) inoculados en el alimento, antes de su almacenamiento, bajo unas condiciones medioambientales determinadas en un ambiente de laboratorio (Betts, 2010). La Unión Europea estableció protocolos para llevar a cabo los ensayos de desafío (UE, 2008). En esencia consisten en inocular el alimento con una concentración definida de una mezcla de cepas de *Listeria monocytogenes* y medir los cambios en las tasas poblacionales del microorganismo durante el almacenamiento considerando el caso más desfavorable. Este tipo de ensayo debe tener en cuenta la variabilidad en los alimentos (uso de diferentes lotes) y la contaminación específica del alimento (inoculación de cepas aisladas del alimento). No obstante, es difícil mimetizar el nivel de contaminación, la heterogeneidad de la contaminación y el estado fisiológico de las bacterias (AFSSA, 2008).

Estos estudios se conocen como ensayos de desafío (inoculación experimental del alimento) y estudios de durabilidad.

Los ensayos de desafío o inoculación experimental, sirven para evaluar el potencial de crecimiento de un microorganismo, es decir si puede o no crecer en un alimento específico (d) o estimar parámetros de crecimiento como la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}).

Los estudios deben simular un abuso razonable de temperatura durante la venta al por menor y durante el almacenamiento del alimento listo para su consumo (ALC) por el consumidor (Scott *et al.*, 2005).

Es aconsejable utilizar inóculos con baja concentración de diferentes cepas de *Listeria monocytogenes* con objeto de introducir la variabilidad en los resultados (Metris *et al.*, 2008). Las cepas usadas deben ser las típicas encontradas en el producto a evaluar pero también debe incluirse cepas clínicas y aquellas que son resistentes al estrés medioambiental durante la vida útil del producto (Luber *et al.*, 2011).

3.1.1 Estudios para establecer el potencial de crecimiento

Un ensayo de desafío (inoculación experimental) para evaluar el potencial de crecimiento, consiste en un estudio de laboratorio en el que se inocula artificialmente *Listeria monocytogenes* en el alimento y se mide su crecimiento durante el almacenamiento en las condiciones de transporte distribución y almacenamiento previsible. Las condiciones deben ser realistas, es decir que pueden tener lugar a lo largo de la cadena de frío, incluyendo las condiciones de almacenamiento después de la producción y hasta el consumo (AFSSA, 2008).

El potencial de crecimiento de un microorganismo (d) es la diferencia entre el \log_{10} ufc/g al final del ensayo y el \log_{10} ufc/g al comienzo del ensayo. Este parámetro depende de varios factores entre los que se pueden destacar los siguientes (UE, 2008):

- Cepa o cepas inoculadas.
- Daño o estrés (estado fisiológico) de las cepas inoculadas.
- Propiedades intrínsecas del alimento (pH, a_w , concentración de sal, microflora asociada, componentes antimicrobianos).
- Propiedades extrínsecas (perfil de temperatura, composición de gases de la atmósfera de envasado).

De todos estos factores, es la temperatura la que mayor influencia puede tener en el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en un alimento dado (EFSA, 2007).

La evaluación del potencial de crecimiento permite (AFSSA, 2008):

- Clasificar a los alimentos como ALC.
 - Cuando $d > 0,5 \log_{10}$ ufc/g, el alimento se clasifica como ALC capaz de permitir el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, no destinado a lactantes o a usos médicos especiales.
 - Cuando $d \leq 0,5 \log_{10}$ ufc/g el alimento se clasifica como ALC que no permite el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, no destinado a lactantes o a usos médicos especiales.
- Cuantificar el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en un alimento de acuerdo con las condiciones previsible entre la producción y el consumo, razonablemente definidas (por ejemplo, calcular la concentración al final de la vida útil partiendo de una concentración inicial).
- Determinar la concentración de *Listeria monocytogenes* en el momento de la producción que permitirá que se cumpla con el límite de 100 ufc/g al final de la vida útil.

La principal ventaja de este método es que es relativamente simple de llevar a cabo y que los resultados se pueden usar directamente de acuerdo a lo anteriormente dicho. La desventaja es que es poco flexible en su interpretación: los resultados solo sirven para el alimento estudiado en las condiciones determinadas, de tal forma que cada vez que hay un cambio en el producto o proceso, se deben llevar a cabo nuevos estudios, con los niveles de réplicas y repeticiones adecuados para que el resultado sea estadísticamente significativo.

3.1.2 Estudios para establecer la velocidad máxima de crecimiento

Las desventajas del estudio para determinar el potencial de crecimiento se pueden resolver combinando modelos de microbiología predictiva y ensayos para evaluar la velocidad de crecimiento. Estos experimentos son más caros y consumen más tiempo que los ensayos de desafío para evaluar el potencial de crecimiento. Estos estudios están restringidos a aquellos casos en los que se puede aplicar la microbiología predictiva y se deben llevar a cabo en laboratorios con experiencia en desarrollo y aplicación de modelos matemáticos predictivos.

Un ensayo de desafío para evaluar la velocidad de crecimiento consiste esencialmente en un estudio llevado a cabo en el laboratorio en el que se mide la velocidad de crecimiento de *Listeria monocytogenes* en un alimento contaminado de forma artificial y almacenado a una temperatura apropiada. La temperatura usada para la experimentación no necesita ser la misma que la utilizada para llevar a cabo las predicciones, ya que es posible predecir lo que ocurre a temperaturas distintas a la del estudio si se dispone de un modelo predictivo secundario (por ejemplo, un modelo polinómico) o a lo largo de un perfil tiempo/ temperatura que se escoge como representación de las condiciones de transporte, distribución y almacenamiento previsible.

Técnicamente, una vez que se ha concluido el ensayo a la temperatura del estudio, la velocidad máxima de crecimiento de la *Listeria monocytogenes* se puede deducir de la curva de crecimiento obtenida. Para ello se representa el logaritmo natural del número

de células en la fase exponencial frente al tiempo de almacenamiento, se realiza una regresión lineal y la pendiente de la curva de regresión representa la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max}), el resultado se puede expresar en horas⁻¹ o días⁻¹.

- La velocidad máxima de crecimiento depende de los siguientes factores:
- La cepa o cepas inoculadas.
- Propiedades intrínsecas del alimento (pH, a_w , concentración de sal, microflora asociada, componentes antimicrobianos).
- Propiedades extrínsecas (p. Ej. perfil tiempo/ temperatura, atmósfera).

Si tenemos estudios a diferentes temperaturas se puede construir un modelo matemático secundario que nos permita deducir la velocidad máxima de crecimiento a temperaturas distintas, siempre en el mismo alimento.

Este tipo de ensayo de desafío permite obtener la siguiente información (AFSSA, 2008):

- Una estimación de la concentración de *Listeria monocytogenes* en un momento dado de la vida útil del alimento si se conoce la concentración inicial en el alimento inmediatamente después de su elaboración.
- Una estimación de la concentración máxima de *Listeria monocytogenes* permitida en un alimento que puede estar presente el día en que se elaboró con objeto de cumplir con el límite de 100 ufc/g al final de la vida útil.

3.2 Estudios de durabilidad

Los estudios de durabilidad permiten evaluar el crecimiento de *Listeria monocytogenes* en un alimento durante el almacenamiento bajo unas condiciones razonablemente previsibles sin que se produzca una inoculación artificial, solamente considerando la contaminación natural del mismo. Estos estudios son más realistas que los ensayos de desafío, ya que se estudia la evolución de la contaminación natural del producto. No obstante, la interpretación de los estudios de durabilidad puede resultar difícil debido a que la prevalencia de unidades contaminadas con *Listeria monocytogenes* puede ser muy baja, la baja concentración de *Listeria monocytogenes* presente en el producto objeto de estudio y la heterogeneidad de la distribución de *Listeria monocytogenes* en el alimento. Esto implicaría la necesidad de llevar a cabo otros ensayos complementarios como los ensayos de desafío.

El registro de los estudios de durabilidad llevados a cabo en el mismo producto bajo las mismas condiciones de procesado, como representación de la variabilidad en las condiciones de fabricación, permiten evaluar los niveles de *Listeria monocytogenes* en el alimento objeto del estudio, al final del ensayo. Se puede usar para evaluar la proporción (con su intervalo de confianza asociado) de unidades (unidades comerciales) que excederían el valor límite de 100 ufc/g al final de la vida útil después del periodo de almacenamiento, reflejando las condiciones de almacenamiento y distribución previsibles. En este tipo de estudios el nivel de confianza aumenta con la cantidad de datos disponibles. Cuantas más unidades de producto sean evaluadas, más fiable será el estudio de vida útil (AFSSA, 2008) (UE, 2008).

Cuadro 1. Árbol de decisiones para realizar estudios de vida útil



Fuente: AESAN, 2011. Informe del Comité Científico de la AESAN en relación a los estudios de vida útil para *Listeria monocytogenes* en determinados productos alimenticios.

ANEXO 6: Información suplementaria sobre organismos patógenos transmitidos por alimentos

La proliferación microbiana puede estar limitada cuando las condiciones están fuera de los parámetros de proliferación de un organismo y ciertas combinaciones de tiempo y temperatura pueden inactivar los organismos patógenos presentes en los alimentos. Este apéndice presenta diversos cuadros con información sobre los parámetros que pueden utilizarse para inactivar ciertos microorganismos o inhibir su proliferación.

- El cuadro A4-1 resume las condiciones que limitan o impiden la proliferación de organismos patógenos transmitidos por alimentos o la formación de toxinas, entre las que se incluyen la temperatura, el pH, la actividad acuosa y la máxima concentración de sal en la fase acuosa.
 - El cuadro A4-2 brinda información sobre las combinaciones de tiempo y temperatura que, en circunstancias normales, impedirán la proliferación de bacterias patógenas transmitidas por alimentos. Esto incluye información sobre las combinaciones de máximo tiempo acumulado y temperatura interna para la exposición segura de alimentos, en circunstancias normales, a las bacterias patógenas que generan mayor preocupación. Los tiempos de exposición se obtuvieron a partir de información científica publicada. Dado que la proliferación bacteriana es logarítmica, es posible que la interpolación lineal
- basada en tiempo y temperatura no resulte adecuada. Asimismo, la matriz del alimento influye sobre la proliferación bacteriana (p. Ej., presencia de microorganismos competitivos, nutrientes disponibles, agentes que limitan la proliferación). Resulta necesario tener en cuenta tales atributos al emplear la información proporcionada en el cuadro A4-2.
- El cuadro A4-3 proporciona información sobre las combinaciones de tiempo y temperatura necesarias para la destrucción de la *L. monocytogenes*. Según este cuadro, la tasa de letalidad es la letalidad relativa de un minuto de exposición a la temperatura interna del producto de referencia de 70°C (es decir, $z = 7.5^\circ\text{C}$). Por ejemplo, un minuto a 63°C es 0.117 veces tan letal como un minuto a 70°C. Los tiempos proporcionados son el intervalo a la temperatura interna del producto designada necesario para obtener una disminución de seis unidades logarítmicas (6D) para la *L. monocytogenes*. El intervalo de tiempo a una determinada temperatura interna del producto requerido para lograr una reducción de seis unidades logarítmicas (6D) en la cantidad de *L. monocytogenes* depende en parte del alimento dentro del cual se calienta. Los valores incluidos en el cuadro en general son conservadores y se aplican a todos los alimentos.

Realizar estudios científicos del tiempo de muerte térmica le permitirá establecer un tiempo de procesamiento más corto para los alimentos. Además, podrán aceptarse valores más bajos de destrucción en el alimento si existe un estudio científico de los niveles iniciales que lo avale. También es posible que algunos alimentos precisen niveles más altos de destrucción, en particular si se prevé obtener niveles iniciales altos.

Para demostrar que el tratamiento térmico listericida aplicado a un determinado producto con una forma de presentación determinada es realmente efectivo, pueden ser necesarios estudios de penetración, de forma que se pueda garantizar que se ha alcanzado la temperatura necesaria durante el tiempo necesario en la zona más fría del producto. Con este fin pueden aplicarse las metodologías de *estudio de esterilidad comercial basadas en la determinación del Valor de la esterilización o Fo (F sub cero)*.

Cuadro A4-1. Condiciones que limitan la proliferación de organismos patógenos

Organismo	Temperatura °C (°F)			pH			Actividad acuosa (aw)			Conc. máx. de sal en fase acuosa
	Mínima	Óptima	Máxima	Mínimo	Óptimo	Máximo	Mínima	Óptima	Máxima	
<i>Bacillus cereus</i>	4 (39)	30-40 (86-104)	55 (131)	4.3	6.0-7.0	9.3	0.92	-	-	10
<i>Campylobacter</i>	32 (86)	42-43 (108-109)	45 (113)	4.9	6.5-7.5	9.5	> 0.987	0.997	-	1.7
<i>Clostridium botulinum</i> - Proteolítico (ABF) - No proteolítico (BEF)	10 (50)	35-40 (95-104)	48 (-118)	4.6	-	9	0.935	-	-	10
	3.3 (38)	28-30 (82-86)	45 (113)	5.0	-	9	0.970	-	-	5
<i>Clostridium perfringens</i>	10 (50)	43-47 (109-117)	50 (126)	5	7.2	9.0	0.93	0.95-0.96	>0.99	7
<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (EHEC)	6.5 (44)	35-40 (95-104)	49.4 (121)	4	6-7	10	0.95	0.995	-	6.5
<i>L. monocytogenes</i>	-0.4 (31)	37 (99)	45 (113)	4.4	7.0	9.4	0.92	-	-	10
<i>Salmonella</i>	5.2 (41)	35-43 (95-109)	46.2 (115)	3.7	7-7.75	9.5	0.94	0.99	>0.99	8
<i>Shigella</i>	6.1 (43)	-	47.1 (117)	4.8	-	9.3	0.96	-	-	5.2
<i>Staph. Aureus</i> - proliferación (anaerobia) - toxina (anaerobia)	7 (45)	37 (99)	50 (122)	4	6-7	10	0.90 (0.83)	0.98	>0.99	20
	10 (50)	40-45 (104-113)	48 (118)	4	7-8	9.8	0.85	0.98	>0.99	10
<i>Streptococcus</i> grupo A	10 (50)	37 (99)	<45 (<113)	4.8-5.3	7	>9.3	-	-	-	6.5
<i>Vibrio spp.</i>	41 (5)	37 (99)	45.3 (114)	4.8	7.6-8.6	11	0.94	0.91-0.99	0.998	10
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-1.3 (30)	25-37 (77-99)	42 (108)	4.2	7.2	10	0.945	-	-	7

Obtenido de FDA, 2011, *Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance*, 4ª edición, y la International Commission on Microbiological Specifications for Foods. 1996, *Microorganisms in Foods 5: Microbiological Specifications of Food Pathogens*, Blackie Academic and Professional, Nueva York.

Cuadro A4-2. Guía de tiempo acumulado y temperatura para controlar la proliferación de organismos patógenos y la formación de toxinas en alimentos¹

Condición potencialmente peligrosa	Temperatura del producto	Máximo tiempo de exposición acumulado
<i>Bacillus cereus</i> : proliferación y formación de toxinas	4-6 °C (39,2-43 °F)	Cinco días
	7-15 °C (44-59 °F)	Un día
	16-21 °C (60-70 °F)	Seis horas
	Por encima de 21 °C (70 °F)	Tres horas
<i>Campylobacter jejuni</i> : proliferación	30-34 °C (86-93 °F)	48 horas
	Por encima de 34 °C (93 °F)	Doce horas
<i>Clostridium botulinum</i> : germinación, proliferación y formación de toxinas: Tipo A y tipos proteolíticos B y F	10-21 °C (50-70 °F)	Once horas
	Por encima de 21 °C (70 °F)	Dos horas
Tipo E y tipos no proteolíticos B y F	3.3-5 °C (37,9-41 °F)	Siete días
	6-10 °C (42-50 °F)	Dos días
	11-21 °C (51-70 °F)	Doce horas
	Por encima de 21 °C (70 °F)	Seis horas
<i>Clostridium perfringens</i> : proliferación	10-12 °C (50-54 °F)	21 días
	13-14 °C (55-57 °F)	Un día
	15-21 °C (58-70 °F)	Seis horas ²
	Por encima de 21 °C (70 °F)	Dos horas
<i>Escherichia coli</i> : proliferación de cepas patógenas	6.6-10 °C (43,7-50 °F)	Dos días
	11-21 °C (51-70 °F)	Cinco horas
	Por encima de 21 °C (70 °F)	Seis horas
<i>L. monocytogenes</i> : proliferación	-0.4-5 °C (31,3-41 °F)	Siete días
	6-10 °C (42-50 °F)	Un día
	11-21 °C (51-70 °F)	Siete horas
	22-30 °C (71-86 °F)	Tres horas
	Por encima de 30 °C (86 °F)	Una hora
<i>Salmonella spp.</i> : proliferación	5.2-10 °C (41,4-50 °F)	Dos días
	11-21 °C (51-70 °F)	Cinco horas
	Por encima de 21 °C (70 °F)	Dos horas
<i>Shigella spp.</i> : proliferación	6.1-10 °C (43-50 °F)	Dos días
	11-21 °C (51-70 °F)	Cinco horas
	Por encima de 21 °C (70 °F)	Dos horas
<i>Staphylococcus. Aureus</i> : proliferación y formación de toxinas	10 °C (50 °F)	Catorce días
	11-21 °C (51-70 °F)	Doce horas
	Por encima de 21 °C (70 °F)	Tres horas ²
<i>Vibrio spp.</i> : proliferación	10 °C (≤ 50 °F)	21 días
	11-21 °C (51-70 °F)	Seis horas
	22-27 °C (71-80 °F)	Dos horas
	Por encima de 27 °C (80 °F)	Una hora ³
<i>Yersinia enterocolitica</i> : proliferación	-1.3-10 °C (29,7- 50 °F)	Un día
	11-21 °C (51-70 °F)	Seis horas
	Por encima de 27 °C (70 °F)	Dos y media horas

¹ Adaptado de FDA, 2011. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance. 4^a edición; supone una alta actividad acuosa y un pH casi neutro.

² Se necesitan más datos.

³ Aplica únicamente a los alimentos cocidos listos para consumir

Cuadro A4- 3-D Inactivacion de *Listeria monocytogenes*

Internal Product Temperature (OC)	Lethal rate	Time for 6D Process (minutes)
63	0.117	17.0
64	0.158	12.7
65	0.215	9.3
66	0.215	6.8
67	0.398	5.0
68	0.541	3.7
69	0.736	2.7
70	1.000	2.0
71	1.359	1.5
72	1.848	1.0
73	2.512	0.8
74	3.415	0.6
75	4.642	0.4
76	6.310	0.3
77	8.577	0.2
78	11.659	0.2
79	15.849	0.1
80	21.544	0.09
81	29.286	0.07
82	39.810	0.05
83	54.116	0.03
84	73.564	0.03
85	100.000	0.02

Nota: z=7.5°C

Fuente: APPENDIX 4: Bacterial Pathogen Growth and Inactivation. Fish and Fishery Products Hazards and Controls Guidance Fourth Edition - Agosto 2019.

ANEXO 7: Control de *Listeria* en minoristas

Este anexo brinda recomendaciones específicas en relación con las medidas que los comerciantes minoristas pueden llevar a cabo en el área de venta de productos listos para el consumo de charcutería y/o de vitrinas de refrigeración de quesos, salazones... etc, para controlar la contaminación provocada por *Listeria monocytogenes* (*Lm*).

El auge de los alimentos listos para consumo, incluidos los que tienen una vida útil en refrigeración prolongada, continúa aumentando. Cada vez se compran más alimentos ya preparados en establecimientos minoristas, tiendas de comestibles y de delicatessen, donde las medidas de seguridad alimentaria pueden no ser suficientes para cumplir con el alto nivel de higiene necesario para controlar o prevenir la contaminación por *L monocytogenes*.

Listeria es una bacteria que se encuentra en ambientes húmedos, el suelo y grietas y zonas de difícil acceso para la limpieza y desinfección de instalaciones y equipos etc.

La *Listeria* crea biopelículas (biofilm) (capas delgadas de microorganismos que se adhieren a las superficies que tienen contacto con los productos) que son difíciles de eliminar del equipo y de otras superficies. *Lm* también tiene unas características únicas que lo hacen diferente de los otros patógenos. La diferencia más significativa es que *Lm* puede multiplicarse a temperaturas de refrigeración, a diferencia de otras bacterias que no crecen en temperaturas frías.

La contaminación de alimentos y/o superficies que entran en contacto directo con ellos por *Listeria* proveniente del ambiente, equipo, empleados o alimentos crudos es un peligro preocupante en los establecimientos minoristas. Puede contaminar los alimentos y las superficies que tienen contacto con los alimentos. La higiene insuficiente, el manejo inadecuado de los productos y las prácticas no higiénicas de los empleados pueden causar la transferencia de la listeria a carnes y productos cárnicos, quesos, comidas preparadas y frutas/vegetales precortados listos para el consumo en las tiendas de venta al por menor.

Controlar *Lm* en los establecimientos minoristas de alimentos es un desafío porque se puede introducir fácilmente a la tienda mediante productos, equipos, envases e incluso personas. No es inusual encontrar *Listeria* en una instalación como un supermercado, que está abierto al público y donde hay un flujo considerable de personas, alimentos y equipos. *Lm* puede esconderse en lugares difíciles de limpiar y persistir durante años.

Aunque *Lm* se destruye por el calor, puede volver a contaminar los alimentos cuando se manipulan después de la cocción. Esto incluye actividades como envolver, cortar, rebanar, dividir y servir alimentos listos para el consumo (ALC). Los alimentos pueden contaminarse por contacto directo con una superficie sucia, o por contaminación cruzada al contactar con otros artículos como equipos, utensilios u otros alimentos.

Los alimentos ALC, como las ensaladas, el pescado ahumado, los quesos blandos, los productos cárnicos fríos, patés etc, que pueden no recibir más

cocción o tratamiento antes de su consumo, tienen un mayor potencial para causar listeriosis.

Principales controles

RECEPCIÓN

Procedimientos recomendados para todos los productos alimenticios:

Vigilar visualmente la recepción de productos.

- Inspeccionar el vehículo de transporte. Debe estar limpio y en buen estado.
- Asegúrese que no haya contaminación cruzada entre productos crudos y productos ALC en el vehículo.
- Compruebe que la integridad del producto y que envases y embalajes no estén dañados.
- Verifique que la carga entrante sea de un proveedor aprobado.
- Asegúrese que los productos recibidos cumplan con las especificaciones de compra.
- Compruebe si hay olores desagradables, textura viscosa u otras características anormales que hagan sospechar que el producto podría haber sufrido un abuso de temperatura.
- Asegúrese de la vigencia y cumplimiento con las especificaciones de las fechas de caducidad o de consumo preferente.

Verifique la temperatura de los alimentos perecederos y potencialmente peligrosos.

Al recibirlo:

- Compruebe que los productos congelados recibidos no muestren signos de descongelación.
- Los productos alimenticios perecederos refrigerados deben trasladarse rápidamente a un área apropiada de almacenamiento en el frigorífico
- o el congelador para mantener el producto a una temperatura $\leq 4^{\circ}\text{C}$ o $\leq 18^{\circ}\text{C}$ o menos respectivamente.
- Mantener un sistema de rotación de stock.

Establezca un procedimiento para rechazar y devolver los productos que en la recepción no cumplan adecuadamente con las temperaturas y/o cualquier otra especificación. Se debe prestar especial atención a la inspección de productos de nuevos proveedores.

ALMACENAMIENTO

- Los frigoríficos y cámaras de almacenamiento refrigerado deben vigilarse y mantenerse para asegurar que tienen la temperatura adecuada ($\leq 4^{\circ}\text{C}$).
- El equipo de refrigeración debe estar equipado con un termómetro calibrado de fácil acceso para su visualización y colocado en el lugar más cálido de la cámara. Se recomienda el uso de dispositivos de registro de temperatura y de sistemas de alarma.
- Mantener un sistema de rotación de stock (FIFO first-in-first-out, lo primero que entra lo primero que sale). La rotación debe hacerse de acuerdo con la fecha de consumo preferente o de caducidad del fabricante.
- Establecer controles para la separación completa de alimentos crudos, cocidos y ALC en todas las áreas de almacenamiento y manipulación. Si el espacio en la cámara es limitado, y es necesario almacenar diferentes productos en el mismo frigorífico, almacenar siempre los alimentos crudos debajo de los productos ALC.
- Mantener la integridad del envase del alimento durante almacenamiento para evitar la contaminación.
- Mantener la identidad del envase durante el período de almacenamiento para facilitar la trazabilidad y la retirada del producto, si fuese necesario.
- Almacene los productos al menos a 15-20cm del suelo y evite salpicaduras al limpiar.
- No almacene productos alimenticios debajo de goteras, fugas o condensaciones.
- Almacene el material de embalaje, envasado y etiquetado protegido de manera que se evite su contaminación.
- Los palets, cajas o embalajes no deben almacenarse en las cámaras ni en áreas de manipulación de productos listos para el consumo.

MANIPULACIÓN DE PRODUCTOS

Es importante adoptar unas prácticas adecuadas de manipulación para proteger los productos listos para el consumo de la contaminación con *Listeria*. Recomendamos lo siguiente:

- Use ALC que contengan agentes antimicrobianos o que hayan recibido algún tratamiento para eliminar o evitar el crecimiento de *Listeria*.
- Vigile y limite la vida útil de los productos listos para el consumo que se abran, confeccionen y se conserven en una tienda más de 24 horas.
- No lonchee los productos previamente. El producto debe cortarse en rodajas en el momento en el que lo soliciten los clientes.

- Elimine los productos que están deteriorados, en proceso de putrefacción, descompuestos, viscosos, rancios o en malas condiciones del área de charcutería tan pronto como sea posible y limpie y desinfecte bien las zonas que tuvieron contacto con dicho producto para evitar la contaminación.
- Devuelva rápidamente los productos listos para el consumo a las vitrinas de refrigeración ($\leq 4^{\circ}\text{C}$), después de lonchearlos, para ralentizar el crecimiento de patógenos.

PRÁCTICAS HIGIÉNICAS

Las principales son:

1. Limpieza y desinfección

- Establezca procedimientos documentados de limpieza y desinfección que describan cómo deben limpiarse y desinfectarse los utensilios y el equipo (por ejemplo, máquinas de cortar) antes de usarse.
 - Limpie y desinfecte los utensilios y equipo usado para manipular, preparar y guardar los productos listos para el consumo frecuentemente (por ejemplo, por lo menos cada 4 horas).
 - Desarme el equipo cuando limpie y desinfecte, para asegurar que pueda llegar a las zonas de difícil acceso donde se puede esconder la *Listeria*.
 - Frote bien las superficies mientras limpie para evitar que se desarrollen películas biológicas (biofilms).
- Como norma general no mantenga los alimentos refrigerados a temperatura ambiente durante más de 30 minutos.
- Guarde y manipule los productos listos para el consumo en zonas que estén separadas de los productos crudos. Los productos listos para el consumo que se preparen, conserven o guarden cerca de productos crudos pueden contaminarse (por ejemplo, por contacto o debido al goteo).
 - Siga las recomendaciones del fabricante en cuanto a la concentración y aplicación de los desinfectantes, incluido el tiempo de exposición, para asegurar que son eficaces.
 - Considere rotar los desinfectantes para proveer un control de bacterias más eficaz.
 - Establezca un procedimiento para desinfectar los equipos de limpieza (por ejemplo, paños y cepillos para restregar) o use artículos de un solo uso y deséchelos después de usar.
 - Use agua a baja presión cuando limpie las zonas de venta y vitrinas para minimizar el excesivo salpicado y el rociado.
 - Use fregaderos separados para lavarse las manos y para limpiar los útiles o el equipo.

- Elimine o retire los artículos que son innecesarios del área de venta.
- Muestree y verifique la limpieza y desinfección de los equipos. El protocolo de muestreo de *Listeria*, debe incluir:
 - Sitios para muestrear.
 - Número de muestras a tomar.
 - Frecuencia de muestreo.
 - Procedimientos de manipulación de muestras.
 - Protocolo de pruebas de laboratorio.
 - Un plan de acción sobre cómo responder a muestras positivas, incluyendo acciones correctivas.

2. Prácticas de los empleados

- Capacite a los empleados en las buenas prácticas de limpieza y desinfección y en procedimientos de manipulación higiénica de los alimentos.
- Asegúrese que los empleados usen guantes y se los cambien según sea necesario para evitar la contaminación de los productos listos para el consumo.
- Facilite instalaciones adecuadas, incluido jabón y agua potable, y ponga carteles con instrucciones sobre cómo lavarse las manos.
- Implemente una política de empresa para asegurar que los empleados enfermos no trabajen con alimentos sin envasar, incluidos los alimentos listos para el consumo.
- Limite el tráfico de empleados en las áreas de charcutería y establezca planos para el flujo de movimiento de los productos, empleados y otros artículos para evitar la contaminación por los clientes y empleados.
- Establezca buenas prácticas para evitar que la ropa exterior propague la contaminación, por ejemplo, usar delantales desechables.

3. Controles en las Instalaciones y el equipo

- No permita que la falta de mantenimiento en las instalaciones o el que haya equipos deteriorados puedan causar que el producto se contamine.
- Asegure que las paredes, suelos, drenajes y estructuras suspendidas en el área de alimentos de charcutería y/o de vitrinas frigoríficas (quesos, salazones...) con productos listos para el consumo, sean lisas, resistentes, no absorbentes, fáciles de limpiar y estén en buen estado.
- No realice obras de reparación (por ejemplo, reemplazar suelos, paredes o techos) en el área de charcutería y/o de refrigeración (quesos, salazones...) con productos listos para el consumo expuestos. Limpie y desinfecte bien el equipo y las instalaciones después de las reparaciones y antes de manipular el producto.

- Mantenga las mesas, tablas de corte, máquinas de cortar y otras superficies que tienen contacto con los alimentos de manera que sean fáciles de limpiar.
- Limpie las estructuras suspendidas, equipos de refrigeración etc, tantas veces como sea necesario para que no tengan condensaciones y asegure que se mantienen en buenas condiciones de higiene.
- Evite que se acumule agua en el suelo y otras superficies en el área de charcutería y/o área de refrigerados cuando haya productos listos para el consumo expuestos.
- Limpie y desinfecte las superficies que se encuentren entre los distintos tipos de artículos listos para el consumo (por ejemplo, jamón, pescado y vegetales) cuando se use el mismo equipo.
- Asegúrese que las picadoras, cortadoras, y otros equipos se mantenga en unas buenas condiciones higiénicas.
- Mantenga los productos envasados y almacenados a $\leq 4^{\circ}\text{C}$ para ralentizar el crecimiento de la *listeria*.

Áreas claves para el mantenimiento y limpieza de las cortadoras de fiambres

Observe cuidadosamente estas áreas por si hay grieta, piezas que falten, estén rotas o sueltas

Acumulación de residuos de alimentos en el soporte de la protección del anillo



Acumulación de residuos en el interior del cubre cuchilla en la piel blanca de plástico



Las superficies debajo del mango de la cortadora pueden acumular residuos de alimentos y se deben revisar para evitar la acumulación de ellos.

FDA www.fda.gov/retailfoodprotection

Resumen de Puntos clave en el control de *Listeria* en Minoristas

GENERAL

- Las condiciones frescas y húmedas pueden crear un ambiente perfecto para crecimiento de *Lm*.
- *Listeria* a veces se puede encontrar en el comercio minorista porque es un contaminante ambiental común. Cuando se detecta, el objetivo es eliminar el microorganismo a través de una rigurosa limpieza y desinfección.

RECEPCIÓN DE PRODUCTOS

- Chequee visualmente los productos entrantes.
- Verifique la temperatura de los alimentos listos para el consumo perecederos que necesitan refrigeración (dependerá del producto o de lo marcado por el fabricante/envasador, recomendándose $\leq 4^{\circ}\text{C}$).
- Se debe prestar especial atención a la inspección de productos de nuevos proveedores.
- Tener un plan de acción para rechazar y devolver entregas que no cumplen temperaturas adecuadas.

ALMACENAMIENTO DE PRODUCTOS ALIMENTARIOS

- Durante el almacenamiento, mantenga todos los alimentos ALC a temperaturas adecuadas, recomendándose $\leq 4^{\circ}\text{C}$.
- Controle la temperatura de los alimentos ALC durante el almacenamiento.
- Los alimentos crudos deben separarse de los alimentos ALC durante toda la manipulación y en las vitrinas de exposición.
- Vigile las temperaturas de la vitrina para garantizar que los productos se mantengan a temperatura adecuada. Tome medidas correctivas inmediatas si las vitrinas exceden la temperatura especificada para los productos que exponga (se recomienda $\leq 4^{\circ}\text{C}$).

MANIPULACIÓN DE ALIMENTOS ALC Y USO DE GUANTES

- Lávese las manos correctamente antes de manipular alimentos ALC y haga uso adecuado de utensilios limpios y desinfectados para dispensarlos, como espátulas, pinzas, etc. Si usa guantes desechables, estos son considerados como utensilios y se usarán para una sola tarea. Antes de su uso, hay que proceder a retirar anillos, pulseras, relojes etc, ya que no pueden limpiarse adecuadamente, pueden causar roturas, que se desprendan trozos, y dificultan una correcta limpieza y secado de manos. Los guantes se desecharán cuando ocurran interrupciones en la actividad que se esté realizando o se cambie de tarea.
- Es recomendable que los guantes desechables no sean de látex dado que pueden causar reacciones alérgicas en algunas personas.

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

- Use solo desinfectantes que hayan sido registrados para el uso previsto y siga las instrucciones en la etiqueta.

FORMACIÓN EN SEGURIDAD ALIMENTARIA

- Capacitar a los empleados en salud personal y prácticas de higiene.

LAVADO DE MANOS

- Todos los empleados que manipulan alimentos deben lavarse las manos y las partes expuestas de los antebrazos a fondo durante al menos 20 segundos.
- Los lavamanos deben ser de fácil acceso, tener agua corriente fría y caliente, jabón de manos, dispensador de toallas de papel o un dispositivo secador de manos, un letrero con instrucciones claras de lavado de manos y un contenedor para eliminación de residuos adecuado.

MUESTREOS

- Se recomienda dispongan de un procedimiento de muestreo para el control microbiológico del medio ambiente o de las superficies en contacto con los alimentos.
- Si muestrean productos para *Lm* han de retenerse y no dispensarse para la venta a los consumidores hasta que los resultados de los análisis indiquen que no están contaminados con *Lm*.

5. Glosario de términos

Actividad de agua (aw): Una medida de disponibilidad de agua para la actividad metabólica y el crecimiento de microorganismos. El término se refiere al agua no ligada disponible en el alimento, y no es lo mismo que el contenido en agua. El agua del alimento que no está unida a otras moléculas puede favorecer el crecimiento microbiano. La escala de la actividad de agua se extiende desde 0 a 1.0 (agua pura), aunque en la mayoría de los alimentos varía desde 0.2 para los muy secos hasta 0.99 para los alimentos frescos más acuosos.

Agente antimicrobiano: una sustancia incluida o añadida a un alimento ALC que tiene el efecto de reducir o eliminar un microorganismo, incluido un patógeno como *L monocytogenes*, o que tiene el efecto de inhibir o limitar el crecimiento de *L monocytogenes* a lo largo de toda la vida del producto (p. ej. lactato de potasio y diacetato de sodio).

Alimento listo para el consumo (ALC): alimento destinado por el productor o el fabricante al consumo humano directo, sin necesidad de cocinado u otro tipo de transformación eficaz para eliminar o reducir a un nivel aceptable los microorganismos peligrosos.

Cadena del frío: sistema continuo que proporciona la conservación en frío de los alimentos perecederos, desde la producción hasta el consumo.

Cepa de referencia (ISO 11133-1:2000): microorganismos definidos por lo menos, al nivel de género y especie, catalogados y descritos según sus características, y preferiblemente de origen conocido, normalmente obtenidos de una colección nacional o internacional reconocida.

Entorno de procesamiento post letal: área de un establecimiento (con inclusión de las superficies de contacto y no contacto) en el que se procesa producto después del proceso antimicrobiano, del tratamiento de letalidad o de la adición del agente antimicrobiano y en la que el producto es expuesto a recontaminación (p. ej. salas de deshuese de jamones curados, de loncheado de productos cárnicos terminados o de envasado de productos).

Estudios de vida útil: Los estudios de vida útil deberán demostrar el cumplimiento de un alimento con el límite de inocuidad alimentaria (criterio (100 ufc/g) establecido para *L monocytogenes* a lo largo de su vida útil.

Lote: Un lote se define en el Artículo 2 (e) del Reglamento para los criterios microbiológicos para alimentos (2073/2005) como un grupo o conjunto de productos identificables obtenidos de un proceso dado en circunstancias prácticamente idénticas y producidos en un lugar dado dentro de un periodo definido de producción.

Muestreo: procedimiento utilizado para seleccionar una o más unidades que componen una muestra.

pH: medición de la acidez o alcalinidad de un alimento; el pH 7 se considera neutro, por lo que valores menores de 7 se consideran ácidos, y los superiores son básicos o alcalinos.

Población: grupo o conjunto de unidades que son objeto de una investigación, relacionado con un proceso y una receta dada. En la práctica, el lote estudiado.

Proceso antimicrobiano: una operación como la congelación, el secado, la fermentación, etc., que inhibe o limita el crecimiento de un microorganismo como *L. monocytogenes* a lo largo de toda la vida útil del producto.

Producto expuesto: producto ALC que entra en contacto directo con una superficie en un entorno de procesamiento post letal donde puede recontaminarse.

Subpoblación muestreada: la(s) unidad(es) seleccionada(s), que se suponen representativas de la población.

Superficies en contacto con alimentos: "Aquellas superficies que están en contacto con los alimentos para consumo humano y aquellas superficies de las cuales ocurre algún drenaje sobre el alimento o sobre las superficies que están en contacto con los alimentos durante el curso normal de las operaciones".

Tratamiento letal o de letalidad: un procedimiento, incluida la aplicación de un agente antimicrobiano, que elimina o reduce el número de microorganismos patógenos sobre o dentro de un producto para hacer dicho producto seguro para el consumo humano.

Tratamiento post letal: es un tratamiento de letalidad que se aplica o es eficaz después de que el producto haya sido expuesto a un entorno de procesamiento donde puede haberse recontaminado.

Unidad de prueba: alícuota de una unidad comercial, destinada a ser analizada.

Unidad de formación de colonias (ufc): Células microbianas que forman una sola colonia en una placa de agar.

Vida útil: periodo de tiempo anterior a la fecha de caducidad o de consumo preferente, según se define respectivamente en los artículos 9 y 10 de la Directiva 2000/13/CE. (Vida útil): el período anterior a la fecha de duración mínima o a la «fecha de caducidad», tal como se definen en el Reglamento (UE) n° 1169/2011. En el caso de alimentos microbiológicamente muy perecederos y que por ello puedan suponer un peligro inmediato para la salud humana, después de un corto período de tiempo, la fecha de duración mínima se cambiará por la fecha de caducidad. Después de su «fecha de caducidad», el alimento NO se considerará seguro (artículo 14 del Reglamento (CE) n° 178/2002).

La vida útil se define como el período de tiempo durante el cual un producto permanece seguro y cumple con sus especificaciones de calidad bajo el almacenamiento y uso esperado. La vida útil determina la fecha de durabilidad y se expresa como una fecha de "consumo preferente", "cons. Pref." o "consumir antes de".

6. Referencias

1. AESAN, 2011. Informe del Comité Científico de la AESAN en relación a los estudios de vida útil para *Listeria monocytogenes* en determinados productos alimenticios.
2. AESAN, 2019. Documento de orientación para la verificación de estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo.
3. AFSSA, 2005. Avis no 2003-SA-0362 de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments sur la révision de l'avis 2000-SA-0094 sur la classification des aliments au regard du risque représenté par *Listeria monocytogenes* et les protocoles de tests de croissance. Disponible en francés en: <http://www.anses.fr/Documents/MIC2003sa0362.pdf>.
4. Codex Alimentarius Commission (CAC) 2009. Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods (CAC/GL 61e2007). Codex Alimentarius Commission.
5. Codex Alimentarius 2004. Directrices generales sobre muestreo. CAC/GL 50-2004.
6. ComBase Predictor. Agencia de Estándares de Alimentos (FSA), Reino Unido; Instituto de Investigación en Alimentos (IFR), Reino Unido; Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura (USDA ARS) y su Centro Regional del Oriente (ERRC), Estados Unidos; y Centro Australiano de Excelencia en Inocuidad Alimentaria, Australia. Disponible en castellano en: <http://www.combase.cc/predictor.html>
7. Control of *Listeria monocytogenes* in Retail Establishments. Food Marketing Institute. 2006.
8. Control of *Listeria monocytogenes* in Retail Establishments, Penn State's College of Agricultural Sciences. The Pennsylvania State University CFA 2010. Chilled Food Association. Shelf life of ready to eat foods in relation to *L monocytogenes*. Guidance for food business operators.
9. Documento guía técnico sobre estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo (CRL *Lm* Guide), dirigido a los laboratorios.
10. Documento para evaluación de la competencia de laboratorios que realizan tests de desafío en relación con *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. Versión 2-7 Mayo 2018 (EURL *Lm* Guidance).
11. Documento técnico sobre estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo. Versión 3-junio 2014- Enmienda 1 de 21 de febrero de 2019 (EURL. *Lm* Guide).

12. FSIS June 2015. Best Practices Guidance for Controlling *Listeria monocytogenes* (*Lm*) in Retail Delicatessens.
13. FSIS Jan 2014. Compliance Guideline: Controlling *Listeria monocytogenes* in Post-lethality Exposed Ready-to-Eat Meat and Poultry Products.
14. FSIS April 2015. Compliance Guideline HACCP Systems Validation.
15. FSIS May 2003. Risk Assessment for *Listeria monocytogenes* in Deli Meats. May 2003.
16. FSIS Apr 2007. Summary of *Listeria monocytogenes* Compliance Guideline for Small and Very Small Meat and Poultry Plants that Produce Ready-to-Eat Products.
17. FSIS Feb 2008. Supplementary Guidance on the Use of Antimicrobial Agents to Control *Listeria monocytogenes* in Post-Lethality Exposed Ready-to-Eat Meat and Poultry Products.
18. Guía para la realización de estudios de vida útil en relación con *Listeria monocytogenes*, conforme al Reglamento nº 2073/2005 (SANCO 1628 2008), dirigido a las empresas.
19. Growth Predictor. Instituto de Investigación en Alimentos (IFR- Institute of Food Research), Reino Unido. Disponible en inglés en: <http://www.ifr.ac.uk/safety/growthpredictor/>
20. Luber P et al. 2011. Controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: Working towards global scientific consensus and harmonization. Recommendations for improved prevention and control.
21. Martín M.A & Rodríguez-Pérez J. CAPA: Acciones Correctivas y Preventivas en las Industrias Alimentarias. Editorial Díaz de Santos 2019. ISBN: 978-84-9052-2015-8.
22. MicroFit. Disponible en inglés en: <http://www.ifr.ac.uk/microfit/>
23. National Advisory Committee for Microbiological Criteria in Foods (NACMCF) 1991. *Listeria monocytogenes*: Recommendations by the National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. International Journal of Food Microbiology 14:185-246.
24. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods 2010. Parameters for determining inoculated pack/challenge study protocols. Journal of Food Protection 73 (1):140-202.
25. Pathogen Modelling Programme. Departamento de Agricultura (USDA), Estados Unidos. Disponible en inglés en: <http://ars.usda.gov/Services/docs.htm?docid=11550>

26. Preventive Controls for Human Food. Food Safety Preventive Controls Alliance (FSPCA). First edition 2016.
27. Reglamento (CE) n° 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005, relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Modificado por:
 - a. Reglamento (CE) n° 1441/2007 de la Comisión de 5 de diciembre de 2007 (DOCE L 322 de 7.12.2007).
 - b. Reglamento (UE) N° 365/2010 de la Comisión de 28 de abril de 2010 (DOCE L 107 de 29.4.2010).
28. Risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods. Technical Report. Microbiological Risk Assessment. Series n° 5 FAO/WHO
29. Scott VN, Swanson KMJ, Freier TA, Pruett WP, Sveum WH, Hall PA, Smoot LA, Brown DG 2005. Guidelines for conducting *Listeria monocytogenes* challenge testing of foods. Food Protection Trends 25 (11): 818-825.
30. UE (2008). Guidance document on *Listeria monocytogenes* shelf-life studies for ready-to-eat foods, under regulation (EC) N° 2073/2005 of 15 November 2005 on microbiological criteria for foodstuffs.
31. UNE-EN-ISO 11290-1: 1997/A1. 2005. Microbiología de los alimentos para consumo humano y para animales. Método horizontal para la detección y el recuento de *Listeria monocytogenes*. Parte 1: Método de detección. Modificación 1: Modificación del medio de aislamiento y de la prueba de la hemólisis e inclusión de los datos de precisión (ISO 11290-1:1996/AM1:2004). Asociación Española de Normalización y Certificación.
32. UNE-EN-ISO 11290-2: 2000/A1. 2005. Microbiología de los alimentos para consumo humano y para animales. Método horizontal para la detección y recuento de *Listeria monocytogenes*. Parte 2: Método de recuento. Modificación 1: Modificación del medio de recuento (ISO 11290-2:1998/AM1:2004). Asociación Española de Normalización y Certificación.
33. USDA/FDA 2013. Interagency Risk Assessment: *Listeria monocytogenes* in Retail Delicatessens. United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service and U.S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition.
34. Vorst K L, Todd EC, and Ryser ET 2006. Transfer of *Listeria monocytogenes* during mechanical slicing of turkey breast, bologna, and salami. Journal of Food Protection, volumen 69, edición 3, páginas 619–626.



Junta de Andalucía