

## Els microorganismes més persistents en els entorns de producció i processament d'aliments



### Introducció

*Listeria monocytogenes* –als sectors de carn, peix i marisc, lactis, fruites i hortalisses–, *Salmonella enterica* –als sectors de carn, ous i aliments amb baixa activitat aigua (aw)– i *Cronobacter sakazakii* –al sector alimentari de baixa aw– són els perills biològics més persistents i alhora rellevants en els entorns d'elaboració d'aliments. Amb una incidència menor assenyalaríem *Campylobacter spp.* i *Escherichia coli O157:H7*.

No obstant això, els bacteris que predominen en l'entorn de producció d'aliments solen ser espècies no patògenes de *Pseudomonas*, *Acinetobacter* i *Staphylococcus*. Els bacteris patògens presents en un biofilm molt probablement en realitat formaran part d'un biofilm multiespècie.

Perills bacterians més rellevants per sectors:

- Carn i productes carnis: *S. enterica* subespècie entèrica (sobretot serovars *Enteritidis* i *Typhimurium*), *L. monocytogenes*, *E. coli* patògens humans, *C. jejuni* i *C. coli*, i *Clostridium perfringens* i *Clostridium botulinum*.
- Peix i productes del mar: *S. enterica*, *L. monocytogenes* i *V. Parahaemolyticus*.
- Llet i productes lactis: *S. enterica*, *Campylobacter spp.*, *E. coli* patògena humana, *L. monocytogenes* i *S. aureus*.

# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener-Febrer 2024

- Fruïtes i verdures senceres, tallades o congelades, baies, suc i productes derivats: *S. enterica*, *E. coli* patògena humana i *L. monocytogenes*.
- Aliments amb baixa aw: *S. enterica* està freqüentment implicada en brots associats a productes de confiteria i aperitius, productes de xocolata, fruits secs i cereals, fruïtes i verdures assecades, llavors per al consum i aliments en pols, inclosos els que són per a nadons; *B. cereus* també apareix en nombrosos casos a partir de productes a base de cereals, especialment arrossos cuinats i plats de pasta, espècies i herbes aromàtiques assecades; *E. coli* patògena humana ha intervingut en nombroses incidències en productes a base de cereals (farines), fruits secs i productes de fruita seca; i *C. sakazakii*, en fórmules infantils en pols.

## Factors que augmenten la probabilitat de persistència de microorganismes en l'àmbit de les instal·lacions

- Llocs més comuns on s'aïlla *L. Monocytogenes* persistent

Són els **equips**. Per exemple, màquines de batut de llets, taules, estris per a evisceració i eliminació de cap/cua, filetejar i desclovar peix i marisc o caixes/cubetes/safates de peix i marisc, fruïtes i verdures. Així mateix se n'aïllen dels desguassos, els sòls (esquerdes, superfícies poroses) i les cintes transportadores (zones desgastades).

L'aïllament repetit de *L. monocytogenes* dels drenatges i sòls pot indicar la persistència en altres llocs de l'entorn de processament; actuen com a llocs col·lectors.

El principal factor de risc per a la persistència de *L. monocytogenes* és el mal disseny higiènic dels equips/màquines —p. ex., màquines difícils de desmuntar per netejar. Això condueix a nínxols difícils de netejar desinfectar i on es poden acumular restes d'aliments i humitat. Altres factors de risc que hi influeixen són una neteja i desinfecció inadequades, una zonificació deficient, matèries primeres contaminades i humitat elevada.

**Taula 1 Factors que afecten a la supervivència i el creixement de *Listeria monocytogenes***

Factors	Límit inferior	Òptim (més ràpid)	Límit superior	Pot sobreviure* (però no pot créixer)
<b>Temperatura (° C)</b>	-1.5 a +3.0	30.0 a 37.0	45.0	-18.0
<b>pH</b>	4.2 a 4.3	7.0	9.4 a 9.5	3.3 a 4.2
<b>Activitat d'aigua (aw)</b>	0.90 a 0.93	0.99	> 0.99	< 0.90
<b>Concentració de sal (%)</b>	< 0.5	0.7	12-16	≥ 20

**Atmosfera:** Anaerobi facultatiu (pot créixer en presència i absència d'oxigen; p. ex., en envasos al buit o en atmosfera protectora).

**Tractament tèrmic durant l'elaboració:** Es requereix una combinació de temperatura/temps e 70°C durant 2 minuts per una reducció D-6 (es a dir, 106 o de 6 decimals) del nombre de cèl·lules de *Listeria monocytogenes*. Altres combinacions temps/temperatura també podrien aconseguir la mateixa reducció.

\*El període de supervivència variarà depenent de la naturalesa de l'aliment i d'altres factors.

## Possibles accions davant *Listeria monocytogenes*:

- **Obstacles físics:** Tractament tèrmic, irradiació, inactivació fotodinàmica, ultrasons, energia electromagnètica, Ultra d'Alta Pressió (UHPH), temperatura d'emmagatzematge, envasat (actiu, al buit), envasat en atmosferes protectores, emmagatzematge en atmosferes controlades, emmagatzematge en atmosferes modificades, emmagatzematge hipobàric.
- **Obstacles fisicoquímics:** aw, ph, potencial Redox, fum, sal, nitrit, nitrat, diòxid de carboni, oxigen, ozó, àcids orgànics, àcid ascòrbic, sulfit, fosfats, glucurolactona, fenol, etanol, productes de la reacció de Maillard, herbes i espècies, lactoperoxidasa.
- **Obstacles biològics:** Flora competitiva, cultius iniciadors, bacteriocines i antibiòtics.

- La persistència de *Salmonella*

El principal reservori de salmonel·la no tifòdica és el tracte gastrointestinal dels animals de sang calenta: mamífers (porcí, boví, rosegadors, etc.) i aus salvatges i domèstiques. Algunes soques també es poden aïllar d'animals de sang freda (mol·luscs, peixos, rèptils, incloses les tortugues). El reservori animal constitueix la principal font de perill; els animals són sovint portadors asimptomàtics. És notable la capacitat de la salmonel·la per sobreviure a baixes temperatures i en entorns secs.

Les plantes i, en particular, les llavors germinades també poden contenir salmonel·la, ja sigui per l'ús de fertilitzants o aigua contaminats, o per pràctiques deficientes de recol·lecció i preparació.

Els principals factors de risc per a la persistència de *Salmonella* són: (i) barreres higièniques i zonificacions inadequades, que permeten la contaminació de zones netes amb residus de zones brutes, especialment en plantes de processament de carn, aviram i ous; (ii) un disseny d'higiene defectuós, que pot provocar la concentració de soques en nínxols i protegir-los de l'exposició a desinfectants; (iii) manca d'aireig/ventilació suficient o presència de pols (especialment en ambients secs); (iv) la neteja i desinfecció inadequada de les instal·lacions (p. ex., sòls, desguassos, estores, equips d'escaldada i plomada, etc.); i (v) fallades d'higiene en la recepció de matèries primeres.

A la zona bruta dels escorxadors de porcs i aviram hi tenen lloc les activitats on les canals són més propenses a la contaminació, l'atordiment, el sagnat i la depilació i la plomada. La contaminació s'associa principalment a les pells i l'acumulació de matèria orgànica a l'aigua d'escaldada, o als equips de depilació i plomada. A la zona neta, la contaminació es pot produir durant l'evisceració, especejament i desossament, i està relacionada principalment amb la fuita de contingut intestinal i l'ús d'equips mal netejats. Un cop *la Salmonella* entra a un escorxador, pot passar a formar part de la microbiota resident, habitar determinats nínxols i constituir un dipòsit de contaminació renovable, independent de les matèries primeres entrants. Cal subratllar que per als escorxadors d'aviram els llocs de contaminació més crítics són la fulla del ganivet per tallar el coll, el dipòsit d'escaldada i el dipòsit de refrigeració d'immersió. El fet de no canviar ni desinfectar l'aigua, o de mantenir temperatures prou elevades (per exemple, > 60 °C per a la carn de porc) en els processos d'ús d'aigua, augmenta la probabilitat de contaminació.

- Els llocs més comuns de contaminació persistent amb ***Cronobacter sakazakii***

*Cronobacter spp.* són microorganismes tel·lúrics, omnipresents, presents a l'aigua, el sòl, la pols i en molts éssers vius. La seva font principal són les plantes. Els rosegadors i els insectes, com les mosques, en poden ser vectors de contaminació. La transmissió als humans es produeix exclusivament a través dels aliments. Un percentatge significatiu dels infants i adults presenten *Cronobacter spp.* a la femta i a la pell, i a la flora bucal.

En general, el nivell de contaminació de les empreses alimentàries per *Cronobacter* és baix però, després de la rehidratació, *Cronobacter* pot créixer ràpidament: el temps de generació és de 300 minuts a 10 °C, 40 minuts a 23 °C i 20 minuts a 37 °C. Pot utilitzar l'àcid siàlic com a única font de carboni i, per tant, créixer en la llet materna i la fórmula infantil.

Les contaminacions persistents se solen produir a les zones d'assecatge i envasament. Els assecadors i les torres d'assecatges, les aspiradores, els tubs i els grumolls de pols són crítics en les empreses elaboradores d'aliments amb poca aw. Per exemple, la contaminació de la fórmula infantil en pols pot tenir lloc per l'addició d'ingredients contaminats com ara midons, proteïnes o llecitina. Els processos de mescla en sec d'ingredients tenen un risc més elevat de contaminació del producte final.

S'han identificat factors de risc relacionats amb barreres higièniques i zonificacions inadequades; neteja i desinfecció inadequades de les instal·lacions; moviment de mercaderies o personal; i el moviment d'aire i pols (per exemple, transmissió per l'aire mitjançant l'obertura de filtres per a la neteja mecànica o l'ús d'aspiradores en operacions de neteja en sec).

Malgrat que la neteja en sec és l'opció preferida en el sector de productes amb baixa aw, a vegades s'utilitzen quantitats limitades d'aigua, on cal aplicar tot seguit un assecatge ràpid i complet de les superfícies netejades. La humitat i la condensació provocarien un creixement ràpid dels microorganismes que colonitzen les instal·lacions. Els residus humits en nínxols com esquerdes, que no es poden assecar ràpidament ni completament, tenen un risc significatiu.

# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener-Febrer 2024

*C. sakazakii* té una alta resistència a la dessecació i a la calor gràcies a la capacitat de formar biofilms en una varietat de superfícies abiòtiques, com ara silici, làtex, policarbonat, acer inoxidable, vidre o clorur de polivinil. En fórmules infantils en pols, on l'aw és d'aproximadament 0,2, sobreviu fins a dos anys i, en cereals infantils, fins a 24 setmanes. Pot sobreviure al procés d'assecatge per polvorització, però és poc probable que sobrevisqui als tractaments tèrmics previs. La resistència a la dessecació està positivament correlacionada amb la resistència a la calor i a la formació de biofilm. *C. sakazakii* pot produir una càpsula que l'ajuda a formar biofilms, proporciona resistència als biocides i a l'estrès osmòtic i en contribueix a la supervivència després de la dessecació. També produeix un pigment carotenoide groc que estabilitza les membranes cel·lulars i proporciona protecció contra l'estrès oxidatiu, la radiació UV directa i la dessecació.

## Mesures de seguiment, prevenció i/o control

En general les estratègies destinades a controlar un patògen en l'entorn de processament sovint també tenen efectes en els altres bacteris.

- **Mesures d'higiene per a *Listeria monocytogenes***

És un microorganisme omnipresent. Per tant, pot ser transmès a la instal·lació de processament per la matèria primera, els treballadors, les eines, els camions, etc., on pot persistir. Cal dirigir els esforços a evitar l'entrada de *L. monocytogenes* a l'entorn de processament. Les bones pràctiques de fabricació i la formació dels empleats ho facilitaran. A més, és necessari un pla d'APPCC que se centri en l'entorn de producció, les persones i la instal·lació i, en conseqüència, que minimitzi l'oportunitat d'entrada de contaminació i la seva propagació. Les instal·lacions i els equips de producció haurien de complir les normatives i els estàndards internacionals de disseny higiènic, com ara les normes ISO (International Organization for Standardisation), de manera que, si entrés contaminació a la instal·lació, les oportunitats de persistir-hi serien limitades.

# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener-Febrer 2024

També és fonamental mantenir els equips i protegir les línies de producció durant qualsevol obra de construcció. La zonificació adequada també resulta imprescindible. La zonificació comença amb la definició de zones humides i seques, i, dins d'aquestes, es defineixen nivells de zones d'higiene bàsica, mitjana i alta. Les zones seques s'han de mantenir seques per evitar el creixement de bacteris, ja que aquests no es multiplicaran en absència d'aigua. N'és un exemple el fet que el rentat de mans provoca un augment de la humitat a l'entorn de la zona seca. Per tant, s'hauria d'avaluar on s'ubiquen els rentamans i també caldria evitar els assecadors de mans d'aire.

Les rutines de neteja d'instal·lacions i equips s'han de dissenyar per prevenir l'adhesió de bacteris: els bacteris persistents poden tenir una major capacitat d'adherir-se a les superfícies i formar biofilm. No és possible identificar un sol material que sigui resistent a l'adhesió bacteriana i adequat per a tots els propòsits. Tanmateix, l'acer inoxidable és el material amb menor adherència de microorganismes i el més fàcil de netejar. La persistència s'ha relacionat amb l'ús de materials porosos (evitar superfícies desgastades). L'ús de materials antiincrustants o antibacterians a les instal·lacions de producció ajudarà a evitar la formació de biofilms. Els biofilms microbians es poden eliminar mitjançant agents de neteja habituals basats en detergents alcalins clorats i energia mecànica, tot i que es pot incloure periòdicament un pas de neteja addicional amb un netejador àcid per eliminar les capes de sals inorgàniques que poden protegir els bacteris. En realitat, l'aplicació de la majoria dels desinfectants en les dosis i el temps d'aplicació adequats (prèvia neteja) és eficaç.

- Mesures enfront de ***Cronobacter sakazakii***

L'estratègia que ha contribuït a la reducció més espectacular de *Cronobacter spp.* ha estat el rentat en sec. Per tant, s'han de netejar en sec els assecadors de polvorització, les mescladores en sec, les màquines d'envasament i les sitges d'emmagatzematge. Les aspiradores són les eines més habituals per a la neteja en sec. Les estratègies de prevenció alternatives inclouen l'ús de bacteriòfags com a auxiliars de processament.

# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener-Febrer 2024

*Cronobacter spp.* no sobreviu a la pasteurització. Els preparats en pols es poden contaminar per l'entorn de producció a través l'aire. Les matèries primeres que no han estat sotmeses a cap tractament tèrmic previ, que s'integren als aliments deshidratats al final del procés, també són la causa de la contaminació del producte final i/o del seu entorn de producció. Per tant, es fa imprescindible establir criteris de qualitat de les matèries primeres i dels ingredients secs afegits als preparats en pols.

- Mesures de control **genèriques** enfront dels microorganismes persistents

Establir requisits estrictes (que apliquin bones pràctiques d'higiene, autocontrols de caire microbiològic, etc.) a l'hora de seleccionar els proveïdors de matèries primeres.

Dur a terme un programa de mostreig i unes proves ambientals és l'estratègia més eficaç per identificar fonts de contaminació i detectar perills potencialment persistents. S'ha de dissenyar seguint un enfocament basat en el risc, definint límits per als resultats acceptables i inacceptables, i esbossant accions de seguiment en cas de resultats no conformes. S'hauria de revisar periòdicament basant-se en l'anàlisi de tendències. Aquest programa ha de formar part del sistema d'APPCC. En són els aspectes clau: identificar els punts de mostreig i determinar els organismes objectiu, la freqüència i el moment del mostreig i el nombre de mostres, el protocol de mostreig i els mètodes de prova. L'enregistrament i l'avaluació dels resultats han de ser els darrers passos. Cal insistir a centrar el mostreig als llocs on s'espera l'aparició d'un microorganisme determinat i on sigui probable que es produeixi la contaminació.

L'Organització de les Nacions Unides per a l'Alimentació i l'Agricultura (FAO) i l'Organització Mundial de la Salut (OMS) han desenvolupat un model d'avaluació de riscos per a les espècies de *Cronobacter spp.* en les fórmules infantils en pols ([FAO/OMS, 2008](#)).



# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener-Febrer 2024

Per confirmar la presència d'una soca persistent i identificar-ne el nínxol dins de la instal·lació, cal fer la caracterització utilitzant mètodes de subtipificació, preferiblement mitjançant la seqüenciació del genoma.

Una vegada feta la confirmació d'un microorganisme persistent, cal intensificar la vigilància per identificar tots els punts de refugi del microorganisme. Entre les mesures que cal aplicar posteriorment pot ser adequat el tancament temporal d'una línia, el canvi de maquinària, la intensificació o el canvi del pla de neteja i desinfecció, incloent-hi un augment del desmantellament previ a la neteja, etc.

## Tot i així, no oblidem *Campylobacter* spp.

*Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* són les causes bacterianes més comunes de gastroenteritis transmesa per aliments en humans a tot el món. Es relaciona amb el consum d'aliments poc cuinats, llet no pasteuritzada, aliments RTE contaminats o amb la ingesta d'aigua. L'increment de la resistència als antibiòtics pot influir en la seva persistència en les cadenes de producció alimentària.

Cal destacar que, en els escorxadors d'aviram, la contaminació creuada es pot produir en les caixes de transport d'aus de corral, en diferents passos del sacrifici, especialment l'escaldada, plomada i evisceració, i també en la venda al detall. Els biofilms multiespècies també incrementen la persistència de *Campylobacter*. De manera similar a *L. monocytogenes*, se sospita que els protozoous serveixen com a reservoris per a *Campylobacter*.

# acsa brief

Agència Catalana de Seguretat Alimentària

Gener-Febrer 2024

## Documents de referència

- [Persistence of microbiological hazards in food and feed production and processing environments](#); EFSA journal 19/01/2024.
- [Persistence of foodborne pathogens and their control in primary and secondary food production chains](#); Diferents autors, Elsevier, Food Control, Volume 44, October 2014, Pages 92-109.
- [Customizing Sanitization Protocols for Food-Borne Pathogens Based on Biofilm Formation, Surfaces and Disinfectants—Their Two- and Three-Way Interactions](#); Diferents autors; December 2023; Applied Microbiology. 4(1):27-46.
- [Factors that contribute to persistent \*Listeria\* in food processing facilities and relevant interventions](#): A rapid review; Elsevier, Food Control, Volume 133, Part A, March 2022.
- [An Agent-Based Model for Pathogen Persistence and Cross-Contamination Dynamics in a Food Facility](#); Amir Mokhtari, Jane M Van Doren; National Library of Medicine; 2019 May; 39(5):992-1021.
- [Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : Cronobacter spp.](#) Saisine n°2016-SA-0082 Mise à jour : Février 2020 1 Cronobacter spp. Famille des Enterobacteriaceae Bactérie.
- [Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : \*Listeria monocytogenes\*](#) Saisine n°2016-SA-0081 Mise à jour : Avril 2020 1 *Listeria monocytogenes*.
- [Document d'orientació tècnica del laboratori de referència de la UE per a Lm sobre assajos de desafiament i estudis de durabilitat per avaluar la vida útil d'aliments a punt per al consum en relació amb \*Listeria monocytogenes\*](#) Versió 4 de l'1 de juliol de 2021.
- [Fiche de description de danger biologique transmissible par les aliments : \*Salmonella\* spp.](#) Saisine n°2016-SA-0080 Mise à jour : Juin 2021 1 *Salmonella* spp. Famille des Enterobacteriaceae Genre *Salmonella* Bactérie Agent zoonotiques.