

“Resistencia” o adaptación de *Listeria spp* a desinfectantes en la industria alimentaria de la carne

Mónica A. Cardona
Bacterióloga Especialista en Microbiología Clínica
Colegio Mayor de Antioquia
Analista Laboratorio Nacional Patógenos COLANTA
monicacg@colanta.com.co
Colombia

Foto: Stockvault free images
Blue water by 2happy

Abstract

In the food industry it is a *Listeria spp* microorganism adapts quickly to environmental changes and chemical and physical conditions, so it is not surprising the emergence of resistance to disinfectants. The ability to acquire genes from antimicrobial resistance and adaptation to disinfectants from other bacterial species makes this kind should be carefully observed from an epidemiological point of view.

For the control of *Listeria spp* in the facilities of food processing plants exist basic programs as Good Manufacturing Practices (GMP) and Sanitation Standard Operating and Procedures (SSOPs). It is important to use a disinfectant in an appropriate concentration to reduce the organism that poses a risk to human health.



▲ Foto: Mónica A. Cardona

Resumen

En la industria alimentaria *Listeria spp* es un microorganismo que se adapta rápidamente a cambios ambientales y a condiciones químicas y físicas, por eso no es sorprendente la aparición de resistencia a desinfectantes. La capacidad para adquirir genes de resistencia antimicrobiana y adaptación a desinfectantes, a partir de otras especies bacterianas, hace que este género deba ser observado cuidadosamente desde el punto de vista epidemiológico.

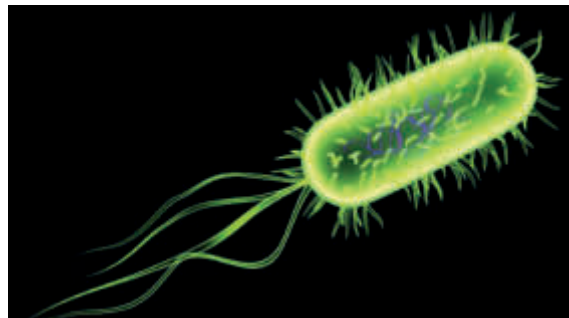
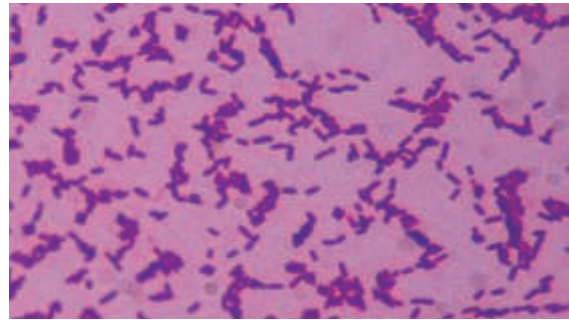
Para el control de *Listeria spp* en las instalaciones de las plantas procesadoras de alimentos son básicos los programas como Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y Procedimientos Operativos y Estándar de Saneamiento (POES). Es importante usar un desinfectante en una concentración apropiada para reducir este microorganismo que representa un riesgo para la salud humana.

Limpieza y desinfección de equipos en Planta Derivados Cárnicos.

Introducción

Listeria spp es un bacilo Gram Positivo (Figura 1) corto, intracelular, ampliamente distribuido en la naturaleza. Este microorganismo es uno de los patógenos más importantes de origen alimentario, dado que resiste a diversas condiciones ambientales como pH bajo, altas concentraciones de sal y, sobre todo, tiene la capacidad de sobrevivir a temperaturas de refrigeración y tratamientos insatisfactorios de pasteurización, constituyéndose en una seria amenaza para la seguridad de la industria alimentaria (Seeliger & Jones, 1986).

El género *Listeria* incluye seis especies: *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. welshimeri*, *L. seeligeri*, *L. ivanovii* y *L. grayi*. *Listeria monocytogenes* (Figura 1) es causante de la Listeriosis (Seeliger & Jones, 1986). Es uno de los patógenos causantes de las infecciones alimentarias más virulentas, con una tasa de mortalidad entre 20% y 30%, más alta que casi todas las restantes toxicoinfecciones alimentarias. Es anaerobio facultativo, capaz de proliferar en un amplio rango de temperaturas (1°C a 45°C) y una elevada concentración de sal. Es catalasa positiva y no presenta cápsula ni espora. Tiene flagelos peritricos, gracias a los cuales presenta movilidad a 30°C o menos, pero es inmóvil a 37°C, temperatura a la cual sus flagelos se inactivan. El 99% de las infecciones por *Listeria* son atribuidas a la ingestión de alimentos contaminados (Doyle, 2001, pp. 355-367).



▲ Foto: Tomada de: Scientific Institute of Public Health. <http://bacterio.iph.fgov.be/images/>

Figura 1.
Coloración de Gram de *Listeria monocytogenes*.

En humanos, la listeriosis invasiva afecta principalmente el Sistema Nervioso Central (SNC), conduciendo a la muerte o, en su defecto, deja secuelas neurológicas. En mujeres en estado de gestación puede inducir abortos o infectar al bebé en el momento del parto; la forma no invasiva ocasiona síndrome gastrointestinal el cual, en la mayoría de los casos, es autolimitante. Existen grupos especialmente sensibles como los neonatos, las mujeres embarazadas, los ancianos y personas inmunocomprometidas. La mortalidad de esta enfermedad oscila entre 20% y 30%. Las manifestaciones más comunes son meningitis, meningoencefalitis, septicemia, aborto, infección prenatal y gastroenteritis (Doyle, 2001, pp. 355-367).



▲ Foto: Mónica A. Cardona

Figura 2. Desinfección en Planta Derivados Cárnicos.

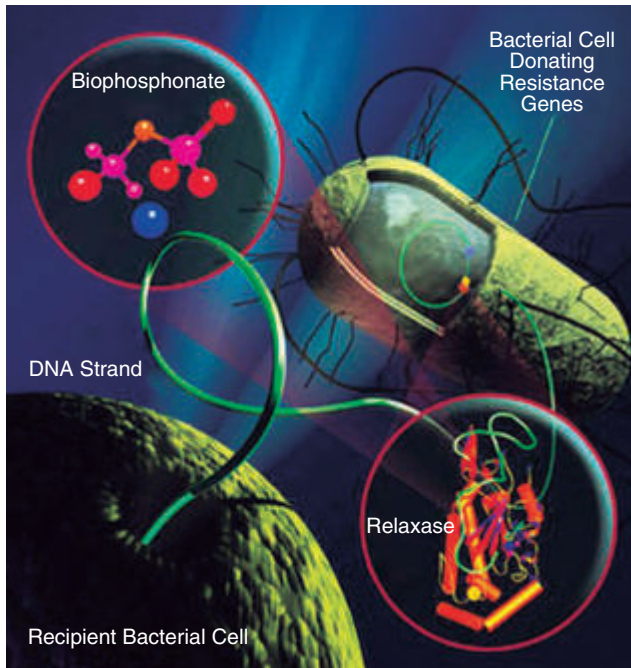
Uno de los principales retos que actualmente enfrenta la industria latinoamericana es el impacto de este microorganismo, ya que contamina e impacta la productividad. Es, por lo tanto, de crucial importancia mantener programas proactivos de limpieza y desinfección (Figura 2).

La contaminación proviene de diferentes fuentes como el flujo de personas y vehículos transmisores indirectos como moscas, agua o roedores, entre otros. En las últimas décadas se ha venido hablando sobre la falta de efectividad de los agentes biocidas o, mejor aun, de la resistencia de ciertos agentes patógenos hacia los desinfectantes, provocando que se experimente con programas de

rotación de desinfectantes con un uso indiscriminado y sin razón de ser.

Cuando se habla de resistencia microbiana se hace referencia a la existencia de material genético que codifica mecanismos de defensa ante la presencia de agentes antimicrobianos que no permite la acción de los mismos. Dentro de la célula bacteriana la resistencia puede ser mediada por cromosomas o plásmidos. El primer caso puede deberse a una mutación genética o un cambio en la regulación genética y la resistencia mediada por plásmidos es consecuencia de la síntesis de una enzima inactivadora de antibióticos. Ambas formas de resistencia inducen mecanismos bioquímicos accesorios que producen proteínas que actúan específicamente en contra de las sustancias letales (Rodríguez, 2011).

A diferencia de los antibióticos, el término “resistencia”, o un aumento del MIC (Concentración Mínima Inhibitoria) de un agente biocida, no necesariamente tiene correlación con el fracaso terapéutico. Un aumento del MIC de un antibiótico puede tener consecuencias significativas en la efectividad, indicando que el organismo objetivo no es afectado por la acción antimicrobiana de este producto. Por estas razones, es más correcto el término “adaptación” o “incremento de la tolerancia” y no el de “resistencia”, si bien es cierto que algunos microorganismos pueden llegar a manifestar mecanismos de este tipo a baja concentración en presencia de algún desinfectante (Rodríguez, 2011).



▲ Foto: Tomada de: buenasalud.net. <http://goo.gl/lzyAQi>

Figura 3.
Plásmidos bacterianos.

Tipos de resistencia o adaptación

Para entender un poco más sobre resistencia presentamos los diferentes tipos:

1. Resistencia adquirida

Está dada por:

- a) Mutación o adquisición de plásmidos o transposones.
- b) Adaptación fisiológica.

2. Resistencia intrínseca

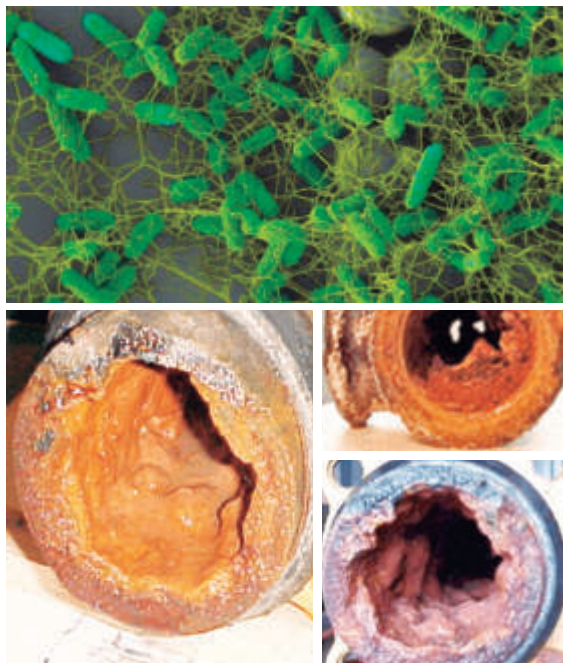
- a) Asociada con las superficies sólidas en la generación de biopelículas y fallas en procesos de lavado.

Las biopelículas son una población de microorganismos asociada a una superficie y unida a una matriz de polímeros extracelulares, están formadas por consorcios bacterianos, entre ellas las bacterias sulfato reductoras, sulfurosas, excretoras de ácidos orgánicos y de exopolímeros. Es precisamente la coexistencia de varios géneros bacterianos la que confiere la resistencia a los agentes desinfectantes y bactericidas, estas sobreviven en superficies inertes como el acero inoxidable y obtienen los nutrientes a partir de su propio metabolismo.

El estrés ambiental producido por el uso de desinfectantes favorece el desarrollo de células viables no cultivables que van a formar parte de las biopelículas, contribuyendo a la complejidad de la tolerancia. La estratificación celular en las biopelículas genera diferencias en la resistencia a los desinfectantes, en la cual las células de la superficie que ya han estado en contacto con los desinfectantes son marcadas para iniciar el proceso de defensa, ya sea mediante la producción de enzimas o la transferencia de información genética (Bolívar, Poutou & Carrascal, 2008).

No obstante, a pesar de ser eliminadas por el desinfectante, este le ha conferido a las capas celulares internas unos rasgos de resistencia que antes no tenían. Por esta razón, la primera película de célula adherida a las superficies tiene mayor resistencia a los productos empleados en la desinfección.

- b) Impermeabilidad adaptativa.
- c) La adaptabilidad es asociada a cambios en la estructura de la membrana externa de las bacterias (Bolívar, Poutou & Carrascal, 2008).



▲ Fotos: Tomadas de el blog de Biotalde. <http://goo.gl/wFCvZL>

Figura 4.

Formación de biopelículas bacterianas en industrias de alimentos.

Cómo trabaja un sanitizante

Cuando una bacteria es expuesta a un sanitizante o desinfectante, su estructura celular puede sufrir daños irreversibles. La pérdida de la capacidad de reproducirse se denomina muerte microbiana. En presencia de germicidas, algunas bacterias son parcialmente dañadas, es por ello que las superficies que se muestrean, inmediatamente después de ser sanitizadas, proveen resultados adecuados.

La efectividad de germicidas específicos depende de diversos factores, incluyendo el número y el tipo de microorganismos

presentes en la superficie por sanitizar. Es también importante considerar que si las bacterias se encuentran en su estado vegetativo son fáciles de eliminar, pero no es así cuando se encuentran como esporas altamente resistentes.

Los germicidas se pueden clasificar en tres clases:

- 1. Destrucción de la membrana celular:** Son germicidas como el hipoclorito de sodio o ácido peracético, que son agentes altamente oxidantes y pueden causar la destrucción total de la membrana celular. Esto significa la muerte real microbiana.
- 2. Inhibición de la alimentación bacteriana y de la eliminación de desechos:** Algunos germicidas como los compuestos de amonios cuaternarios tienen la capacidad de adherirse a la membrana celular de las bacterias debido a que poseen una carga positiva en solución. De esta manera, evitan que la bacteria tome nutrientes y previenen la eliminación de desechos que se acumulan dentro de su estructura. En efecto, la célula muere por falta de nutrientes y por contaminación por los desechos acumulados en su interior.
- 3. Inactivación de enzimas críticas:** Biocidas como compuestos fenólicos, entran en la célula bacteriana y reaccionan químicamente con ciertas enzimas vitales que sustentan tanto el crecimiento como actividades metabólicas que le proveen energía a la bacteria para poder reproducirse. Si este mecanismo no se realiza en forma completa la bacteria puede regenerarse nuevamente luego de varias horas y recontaminar la superficie (Suanca, 2008).



▲ Foto: Mónica A. Cardona

Figura 5.
Método de aplicación del detergente por espumado.

Recomendaciones para la elección y uso de desinfectante en la industria alimentaria

La sanitización comienza con un adecuado programa de limpieza. Los restos orgánicos provenientes de los residuos de alimentos como grasas, aceites y proteínas pueden evitar que el sanitizante entre en contacto físico con la superficie que necesita ser sanitizada. La presencia de depósitos orgánicos puede inactivar o reducir la efectividad de algunos tipos de sanitizantes como los hipocloritos, tornando el proceso inefectivo.

En las distintas industrias alimenticias un adecuado procedimiento de higiene trabaja mejor si se siguen las siguientes recomendaciones: **Los residuos de alimentos de gran tamaño deben ser eliminados inicialmente mediante trabajo mecánico y abundante agua potable a presión. Posteriormente, se debe aplicar el detergente apropiado en las cantidades y tiempos especificados por el fabricante (generalmente 15 minutos). Finalmente, se enjuaga la superficie con agua potable para eliminar los restos de suciedad y detergente.**

Cumplidos estos pasos, se puede aplicar el sanitizante adecuado, en la dosis y tiempo especificados por el fabricante. Una vez terminado este proceso, se enjuaga con abundante agua potable. Una limpieza efectiva depende de la elección adecuada del producto de limpieza; la temperatura, dureza y pH del agua; el período de contacto y el método de aplicación del detergente: por espuma (Figura 6), CIP (Clean in place: limpieza en el sitio), aspersion, entre otros (Suanca, 2008).



▲ Foto: Mónica A. Cardona

Figura 6.
Desinfectantes usados en la industria alimentaria.

Productos comercialmente disponibles

Actualmente, se encuentran muchos productos químicos bactericidas disponibles comercialmente. Los más utilizados se relacionan en la Tabla 1.

Efectividad en la eliminación de agentes patógenos

Dentro de las soluciones que se le han dado a la falta de eficacia de muchos agentes biocidas, generada por procesos adaptativos de los microorganismos que producen biopelículas, se resalta la rotación de agentes desinfectantes como parte integral del programa de bioseguridad. No obstante, se han presentado problemas adicionales por el uso indiscriminado de

Tabla 1.
Productos químicos bactericidas más utilizados.

	Rango de pH	Conc. de uso (ppm)	Efecto de la dureza del agua	Efecto de orgánicos en el agua	Actividad germicida	Actividad contra bacterias Gram (+)	Actividad contra bacterias Gram (-)	Actividad contra esporas
• Hipoclorito de sodio	5-7	200	Moderada tolerancia	Inactivada	Elevada	++++	++++	+++
• Yodóforos	1-5	25	Actividad reducida	Actividad reducida	Moderada	++++	++++	---
• Amonios cuaternarios	8-11	200	Actividad reducida	Moderadamente estables	Variada	++++	++++	---
• Ácidos	11-3	200	Actividad reducida	Baja reactividad	Muy buena	++++	++++	---
• Aldehídos	6-8	2%	Sin efecto	Actividad reducida	Elevada	++++	++++	++++
• Alcoholes	5-8	70%	Sin efecto	Pérdida de actividad	Moderada	++++	++++	---
• Fenoles	10.5-11.5	200-400	Moderada tolerancia	Moderadamente estables	Muy buena	++++	++++	+++
• Ácido paracético	3.5-5.5	150-200	Efecto limitado	Reacciona y pierde actividad	Elevada	++++	++++	++++
• Dióxido de cloro	2-5	5.15	Sin efecto	Influencia limitada	Elevada	++++	++++	+++

++++
Altamente efectivo

+++
Moderadamente efectivo

++
Levemente efectivo

--
Inefectivo

programas de rotación, debido a que se vuelven poco efectivos los procesos de desinfección (Castellanos, 2009).

El mejor sistema para evitar la formación de biopelículas es efectuar planes de rotación de pH (detergentes ácidos y alcalinos) en los procedimientos de limpieza, limitando la diseminación de problemas por presencia de agentes patógenos.

Conclusiones

En la industria de alimentos, los microorganismos se adhieren a la superficie. Este factor, junto con la presencia de materia orgánica y la formación de biopelículas, puede reducir el efecto de los desinfectantes sobre los microorganismos.

L*isteria monocytogenes* ha desarrollado diferentes mecanismos para eludir el efecto tóxico de los antibióticos y generar protección contra los compuestos químicos de los desinfectantes. La industria de alimentos aconseja una rotación constante de los diferentes desinfectantes.

Para disminuir la incidencia de *Listeria spp* dentro de las plantas procesadoras de alimentos se deben poner en práctica programas de bioseguridad integrales, que incluyan excelentes medidas de limpieza y trabajar los agentes detergentes o biocidas en las concentraciones adecuadas y en las condiciones que recomienda el fabricante, asegurándose de no presentar subdosificaciones de los productos y evitando los fenómenos de adaptación o resistencia intrínseca.

Es claro que los microorganismos pueden adaptarse a una gran variedad de cambios físicos del ambiente y a condiciones químicas. Por tal motivo, se aconseja una rotación constante de los diferentes desinfectantes, de esta manera se reduce la resistencia a los compuestos sanitizantes y se generan productos inocuos que no comprometan la salud del consumidor.

Referencias

- Bolívar, Z., Poutou, R. & Carrascal, A. (2008). Resistencia antimicrobiana y a desinfectantes de *Listeria spp*. Nova - *Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 10(6), 201-218. Recuperado de: http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA10_ARTREVIS4_LISTE2.pdf
- Castellanos, M. (2009). Efecto de adaptación de los microorganismos a los agentes biocidas y su impacto económico. En Bavera, G. *Sitio argentino de producción animal*. Recuperado de: http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/comun_varias_especies/05efectoadaptacion_microorganismos.pdf
- Rodríguez, J. (2011) Resistencia y adaptación de patógenos a desinfectantes. En *Eroski Consumer*, El diario del consumidor. Recuperado de: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2003/03/26/5687.php>.
- Rojas, C. (2007). *Evaluación de 4 desinfectantes sobre Listeria monocytogenes aislada en productos cárnicos crudos de una planta de procesados en Bogotá*. Trabajo de grado para optar al título de Microbióloga Industrial, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Recuperado de: <http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8302/1/tesis279.pdf>
- Seeliger, P. & Jones, D. (1986). Género *Listeria* Pirie. En Holt, J., Hendricks, D. & Krieg, N. (Eds.), *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 2 (pp. 1235-1245). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Suanca, D. (2008). *Diseño de un programa de limpieza y desinfección para la "Casa de Banquetes Gabriel", actual administradora del casino de la empresa Algarra*. Trabajo de grado para optar al título de Microbióloga Industrial, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Recuperado de: <http://repository.javeriana.edu.co/bitstream/10554/8566/1/tesis141.pdf> ■