



Importancia de la verificación de los procesos de limpieza y desinfección de superficies de zonas y equipos de producción en la industria cárnica

El objetivo del presente estudio es el de conocer cómo de eficaces son los protocolos de limpieza y desinfección establecidos de forma rutinaria, centrándose en empresas del sector cárnico, mediante la determinación de flora indicadora, alterante y patógena presente en superficies de zonas y equipos de producción.

B. Rubio*, V. Casero, L. Blanco

Estación Tecnológica de la Carne
Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León
C/ Filiberto Villalobos, 5
37770 Guijuelo, Salamanca
España
E-mail: rubherbe@itacyl.es

Introducción

De forma general, el proceso de limpieza y desinfección en la industria alimentaria tiene como objetivo garantizar la seguridad durante el proceso de manipulación de alimentos, por lo que debe asegurarse que todas las instalaciones y los equipos estén debidamente limpios. Para ello, este proceso de higienización suele llevarse a cabo en dos fases: 1) de eliminación de todas las sustancias que puedan interferir en la acción del desinfectante y 2) de reducción del número de microorganismos vivos y destrucción de microorganismos patógenos y alterantes.

Los protocolos que establecen cómo llevar a cabo el proceso de limpieza y desinfección se incluyen en el Plan de Limpieza y Desinfección (L+D)

como prerequisite del sistema APPCC, dentro del Sistema de Autocontrol de la industria alimentaria. Para el diseño de un adecuado protocolo es importante conocer la flora residente en las superficies de la planta de procesado de alimentos, así se podrán desarrollar procedimientos específicos de cada zona y/o equipos para

como *Listeria monocytogenes*. Estos microorganismos, por contacto, pueden contaminar los productos alimenticios incluso si sobreviven tras la etapa de limpieza y desinfección. A este tipo de contaminación, directa o indirecta, por parte de los microorganismos desde una matriz contaminada a otra matriz no contaminada, se la

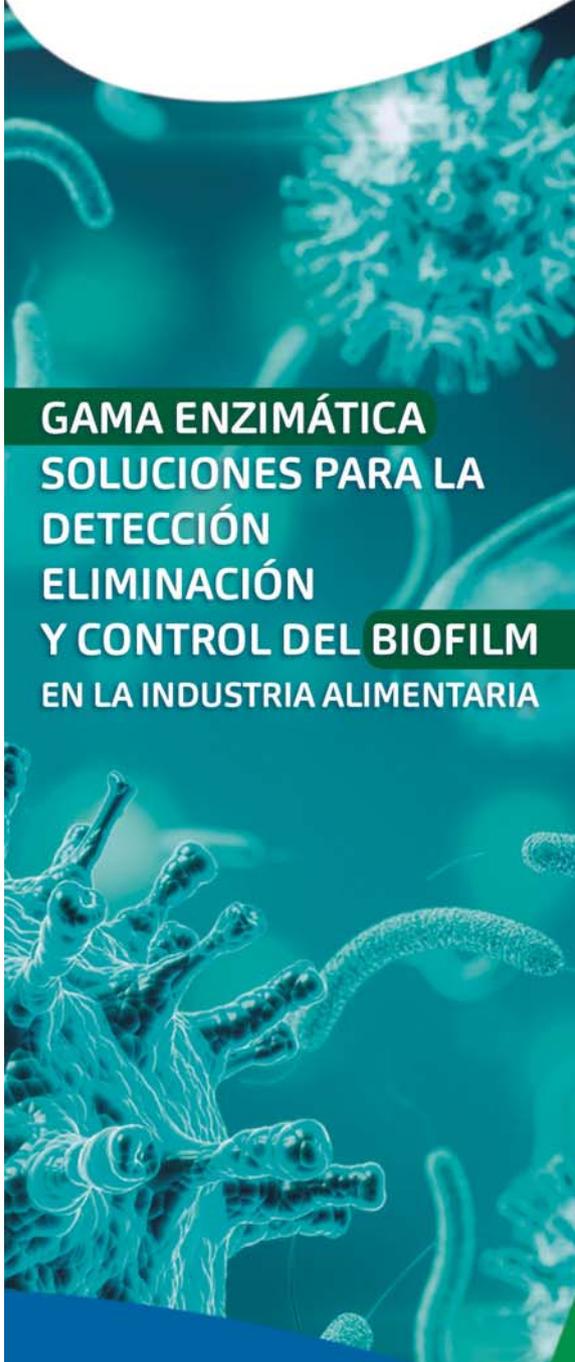
Los factores determinantes para que la contaminación ocurra suelen ser: prácticas higiénicas ineficientes, falta de higiene de los manipuladores y presencia de superficies contaminadas

conseguir condiciones higiénicas apropiadas, libres de contaminación microbiológica. Además, el protocolo debe incluir una etapa de monitorización de las operaciones de limpieza y desinfección para comprobar que se han realizado de forma correcta o, en caso contrario, establecer las medidas correctoras que permitan mejorar la efectividad del proceso de limpieza y desinfección.

A pesar de los esfuerzos realizados por la industria alimentaria en la implantación de programas de limpieza y desinfección dotados de personal específico para su desarrollo, las superficies siguen considerándose como una de las principales vías de contaminación de alimentos (Fagerlund y col., 2021; Zang y col., 2021). Las bacterias que colonizan las superficies actúan como reservorio de microorganismos alterantes, como *Pseudomonas aeruginosa*, y/o patógenos,

conoce como contaminación cruzada. Los factores determinantes para que este tipo de contaminación ocurra suelen ser: prácticas higiénicas ineficientes, falta de higiene de los manipuladores y presencia de superficies contaminadas (Tirado y Schmidt, 2001).

Para alcanzar elevados estándares de higiene en el ambiente de procesado de los alimentos y prevenir la contaminación microbiológica de éstos, es imprescindible la realización de controles analíticos periódicos tras la implantación del plan. Además de disponer de un registro de análisis microbiológicos, la evaluación de los resultados obtenidos en los mismos va a permitir establecer un programa de control. Esta herramienta, facilitará la valoración de la eficacia del plan y la toma de decisiones para adoptar las medidas oportunas antes de que el proceso productivo esté fuera de control. Dado que,



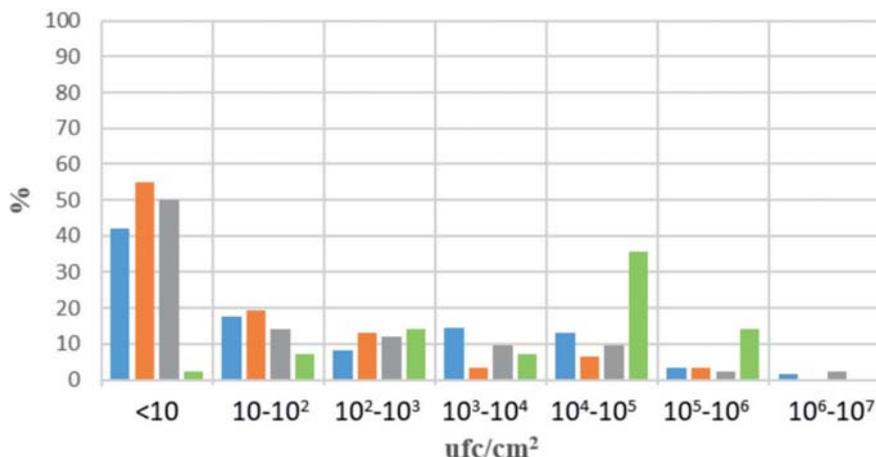
GAMA ENZIMÁTICA
SOLUCIONES PARA LA
DETECCIÓN
ELIMINACIÓN
Y CONTROL DEL BIOFILM
EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Ofrecemos nuevas soluciones que responden a los desafíos presentes y futuros en **SEGURIDAD ALIMENTARIA**

www.kersia-group.com

FIGURA 1

Porcentaje de muestras, de las obtenidas semanalmente durante un mes en las 3 empresas, que presentaron diferentes niveles de contaminación (ufc/cm²) de bacterias aerobias mesófilas en función de la zona muestreada



■ Zona 1: zona de contacto directo con el alimento; ■ Zona 2: zona de no contacto próxima al alimento; ■ Zona 3: zona de no contacto alejada, pero dentro de la zona de producción del alimento y ■ Zona 4: zona de no contacto de fuera del área de producción del alimento.

en determinadas ocasiones la evaluación de los resultados analíticos no se realiza con la frecuencia necesaria, el mero hecho de disponer y ejecutar de forma habitual un Plan de Limpieza y Desinfección no resulta suficiente para garantizar la seguridad de las producciones, como así lo demuestran las recientes alertas alimentarias ocurridas en España (AESAN, 2022).

En este sentido, el objetivo del presente estudio fue conocer cómo de eficaces son los protocolos de limpieza y desinfección establecidos de forma rutinaria, centrándonos en empresas del sector cárnico, mediante la determinación de flora indicadora, alterante y patógena presente en superficies de zonas y equipos de producción.

Material y métodos

Para la realización del presente estudio se contó con la colaboración de 3 empresas dedicadas a la producción de carne y derivados cárnicos de cerdo Ibérico ubicadas en Castilla y León. Todas las empresas disponían de protocolos de limpieza y desinfección definidos, y de personal específico para la realización de las tareas necesarias, que llevaban a cabo diariamente una vez que acaba-

ba la jornada de producción. En cada una de las 3 empresas, se seleccionaron las áreas de mayor interés, teniendo en cuenta el histórico de datos. Durante un mes se tomaron muestras de superficies en estas áreas, con una periodicidad semanal y cada semana se tomaban entre 8 y 15 muestras en función del tamaño del área a muestrear. Las superficies muestreadas incluían tanto zonas de contacto directo con el alimento como zonas de no contacto (próximas al alimento, alejadas, pero dentro de la zona de producción del alimento y de zonas de fuera del área de producción del alimento), zonas identificadas como 1, 2, 3 y 4, respectivamente. Todas las muestras se recogieron en preoperativo, una vez llevadas a cabo las operaciones de limpieza y desinfección y antes del comienzo de la jornada laboral.

En las muestras recogidas, se llevaron a cabo determinaciones analíticas cuantitativas y cualitativas para evaluar flora indicadora (bacterias aerobias mesófilas, enterobacterias y *Listeria* spp), flora deteriorante (*Pseudomonas* spp., mohos y levaduras) y bacterias patógenas (*Listeria monocytogenes*). Las determinaciones cuantitativas de recuento en placa se realizaron utilizando los medios, temperaturas y condiciones de incubación habituales para los microorganismos a determinar. Así, para bacterias aerobias mesófilas totales: siembra en Placa Petrifilm Aerobic Count (AC) e incubación a 30 °C/ 72 h; para enterobacterias: siembra en Placa Petrifilm Enterobacterias (EB) e incubación a 37 °C/ 24 h; para *Pseudomonas* spp.: siembra en agar base *Pseudomonas*. suplementado con CFC (Cetrimida, Ácido fusídico y Cefaloridina) e incubación a 25 °C/ 48 h, para mohos y levaduras: siembra en Placa Petrifilm para el Recuento Rápido de Mohos y Levaduras e incubación a 25 °C/ 5 días. Además, la presencia de *Listeria* spp. y de *Listeria monocytogenes* se investigó por técnicas de PCR utilizando el método validado por AOAC foodproof® *Listeria* plus *L. monocytogenes* Detection LyoKit y siguiendo las instrucciones del proveedor.

Abril 2023

Los resultados obtenidos en las determinaciones de recuento en placa fueron expresados como ufc por cm^2 . Para cada microorganismo evaluado, los recuentos fueron clasificados en rangos de contaminación y se determinó el porcentaje de muestras perteneciente a cada rango en función de la zona muestreada. Estos porcentajes fueron representados en gráficos de barras. Los resultados obtenidos en las determinaciones cualitativas se expresaron como detectado o no detectado por área muestreada y en el caso de los detectados se expresaron como porcentaje.

Resultados y discusión

Flora aerobia mesófila

Los resultados obtenidos en el recuento de bacterias aerobias mesófilas clasificados por zonas muestreadas y niveles de contaminación se muestran en la **figura 1**. Como puede observarse,

en torno al 50% de las muestras obtenidas en las zonas 1, 2 y 3 presentaron un nivel de contaminación inferior a 10 ufc/cm^2 , mientras que solamente el 2% de las muestras obtenidas en la zona 4, presentaron este bajo nivel de contaminación. Las muestras que mostraron recuentos de $10-10^2 \text{ ufc/cm}^2$ representaron el 18, 19, 14 y 7 % y pertenecían a las zonas 1, 2, 3 y 4, respectivamente. El número de muestras clasificadas en niveles superiores de contaminación ($10^2-10^3 \text{ ufc/cm}^2$, $10^3-10^4 \text{ ufc/cm}^2$, $10^4-10^5 \text{ ufc/cm}^2$) fue disminuyendo progresivamente para todas las zonas excepto las de la zona 4. En este caso, la mitad de las muestras evaluadas (50%) presentaron niveles de contaminación entre $10^4-10^6 \text{ ufc/cm}^2$.

Para poder establecer qué superficies de las evaluadas se pueden considerar “limpias” o “sucias” según los recuentos de aerobios mesófilos, se han tenido en cuenta las recomendaciones incluidas en la recopilación de normas microbiológicas de los ali-

DETECCIÓN DE ALERGENOS ALIMENTARIOS EN SUPERFICIE EN DOS MINUTOS



Prosensing y Sulsensing revolucionan el mercado de la validación de la limpieza en superficie para evitar la contaminación cruzada por alérgenos alimentarios

SEGURIDAD ALIMENTARIA

Fáciles de usar, rápidos, sensibles, fiables y económicos



¿Te imaginas poder validar la limpieza en superficie en menos de dos minutos?

Olvídate de costosos y complejos procedimientos

¡Conoce nuestros productos !



La solución definitiva que evita la contaminación cruzada por alérgenos alimentarios



www.proyektokryptonita.com

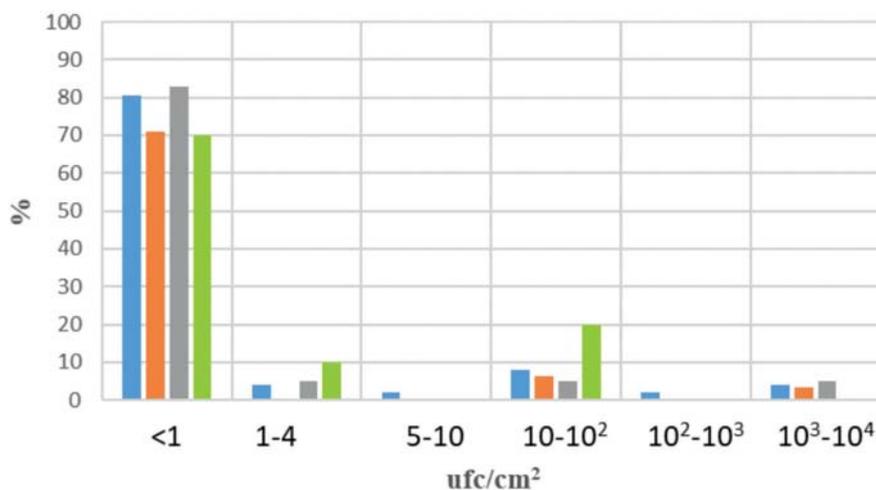
626129417

info@proyektokryptonita.com



FIGURA 2

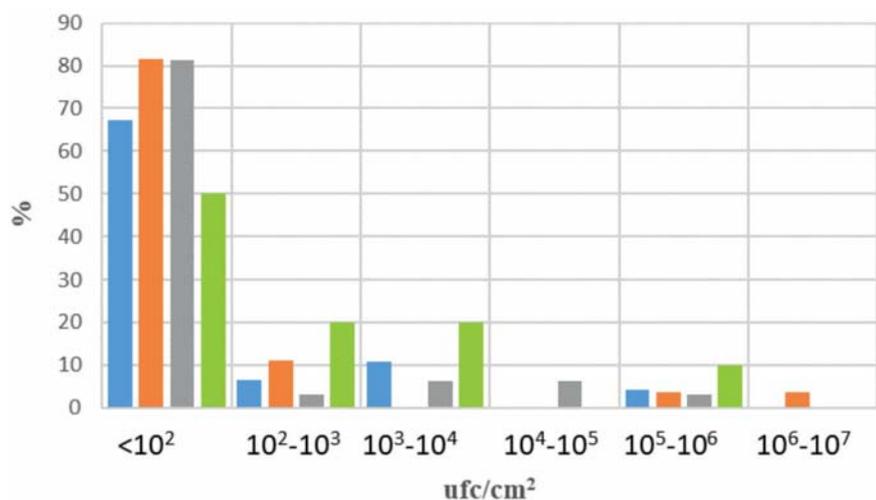
Porcentaje de muestras, de las obtenidas semanalmente durante un mes en las 3 empresas, que presentaron diferentes niveles de contaminación (ufc/cm²) de enterobacterias en función de la zona muestreada



■ Zona 1: zona de contacto directo con el alimento; ■ Zona 2: zona de no contacto próxima al alimento; ■ Zona 3: zona de no contacto alejada, pero dentro de la zona de producción del alimento y ■ Zona 4: zona de no contacto de fuera del área de producción del alimento.

FIGURA 3

Porcentaje de muestras, de las obtenidas semanalmente durante un mes en las 3 empresas, que presentaron diferentes niveles de contaminación (ufc/cm²) de *Pseudomonas* spp. en función de la zona muestreada



■ Zona 1: zona de contacto directo con el alimento; ■ Zona 2: zona de no contacto próxima al alimento; ■ Zona 3: zona de no contacto alejada, pero dentro de la zona de producción del alimento y ■ Zona 4: zona de no contacto de fuera del área de producción del alimento.

mentos y asimilados para superficies de manipulación de alimentos (Moragas y Valcárcel, 2022). En este sentido se consideran superficies “limpias o aceptables” aquellas que presentan un nivel de contaminación inferior a 10² ufc/cm² y “sucias” las que presentan recuentos superiores a 10² ufc/cm². Considerando los resultados obtenidos en este estudio, se puede decir que, el 60% de las muestras pertenecientes a superficies en contacto con el alimento (zona 1) estaban “limpias o aceptables”. También el 74% de las muestras evaluadas en zonas de no contacto con alimentos, pero próximas (zona 2) y el 64 % de las muestras alejadas localizadas dentro de la zona de producción (zona 3) se calificaban como superficies “limpias”. En contra, el 50% de las muestras de zonas alejadas y localizadas fuera de la zona de producción (zona 4) se clasificaron como “no aceptables”. Destacar que, en el proceso de toma de muestra, todas las superficies muestreadas presentaban ausencia de suciedad visible y que, la mayor parte de las muestras que se incluían en la categoría “superficie sucia” se corresponden con sumideros, suelo de montacargas o básculas de suelo.

Enterobacterias

Respecto a los recuentos obtenidos para enterobacterias, en la **figura 2** se puede observar que el 80, el 71, el 83 y el 70 % de las muestras incluidas en las zonas 1, 2, 3 y 4, respectivamente, presentaron valores inferiores a 1 ufc/cm², valor recomendado para considerar las superficies como “aceptables” (Moragas y Valcárcel, 2022). Las muestras de la zona 1 (en contacto con el alimento) que

presentaron valores superiores a 1 ufc/cm² fueron principalmente mesas de polietileno y las de la zona 2 muestras tomadas en zonas inferiores de mesas o mandos de control de equipos. Las muestras de las zonas 3 y 4 que presentaron una mayor contaminación fueron las tomadas de sumideros y básculas de suelo.

Se consideran superficies “limpias o aceptables” aquellas que presentan un nivel de contaminación inferior a 10² ufc/cm² y “sucias” las que presentan recuentos superiores a 10² ufc/cm²

Las enterobacterias comprenden bacilos Gram negativos aerobios y anaerobios facultativos y se caracterizan por no formar esporas, fermentar la glucosa, no producir oxidasa, y tener una movilidad variable. Se usan como indicador, ya que su presencia es indicio de una limpieza inadecuada, de condiciones insalubres o de contaminación después del procesado. Por este motivo, constituyen una importante herramienta en los programas de control ambiental para controlar las condiciones higiénicas en la producción de alimentos.

Pseudomonas spp.

Otro género de bacterias que se puede encontrar en las superficies y equipos de la industria alimentaria es *Pseudomonas spp.* Los resultados obtenidos en este trabajo en el recuento de estos microorganismos se muestran en la **figura 3**. En general, la mayor parte

de las muestras presentaron recuentos inferiores a 10² ufc/cm² (67 % zona 1, 81 % zona 2, 81 % zona 3 y 50 % zona 3) criterio establecido por Garriga y col. (2006) para clasificar a las superficies como “aceptables” teniendo en cuenta los recuentos de *Pseudomonas spp.* De nuevo, el 50 % de las superficies incluidas en la zona 4 no

presentaban un nivel de limpieza y desinfección “aceptable”.

En general, las superficies que presentaron altos recuentos de *Pseudomonas spp.* coincidieron con superficies de polietileno que presentaban síntomas de deterioro (mesas de trabajo), zonas en las que se apreciaba cierta condensación, (por ejemplo, bordes inferiores de mesas de acero inoxidable) o un secado insuficiente de las instalaciones tras la realización de la higienización. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros estudios (Fuster i Valls, 2006) que indican que la eficacia de los procesos de limpieza y desinfección se ve perjudicada por la presencia de rayas y abrasiones en el caso de superficies de polietileno y por condiciones ambientales de elevada humedad. Ambos factores propician la presencia de una elevada carga microbiana en las superficies, principalmente de flora Gram negativa como *Pseudomonas spp.*



CHRISTEYNS



Servicio de Higiene Integral certificado*

*SGS International Certification Services



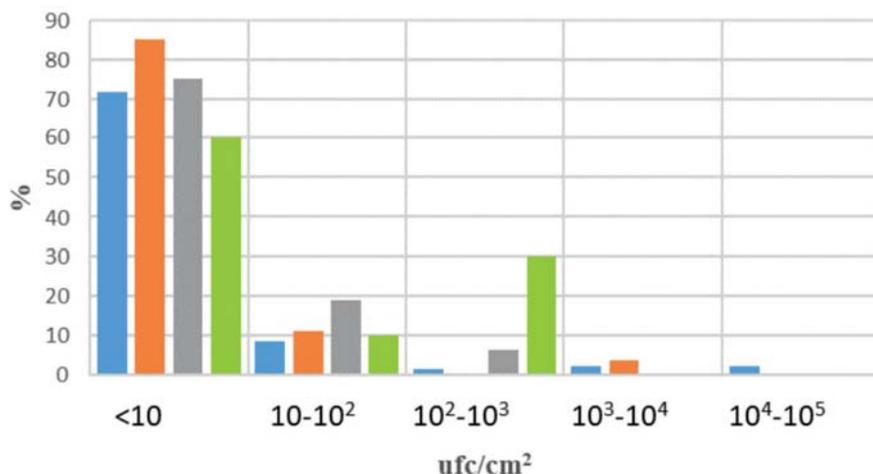
El SHI cubre todas las áreas y factores implicados en la higienización de las instalaciones de la industria alimentaria:

suministro de productos químicos, validación de los resultados, higiene sostenible, diseño de procedimientos de higiene y formación.

CHRISTEYNS.COM

FIGURA 4

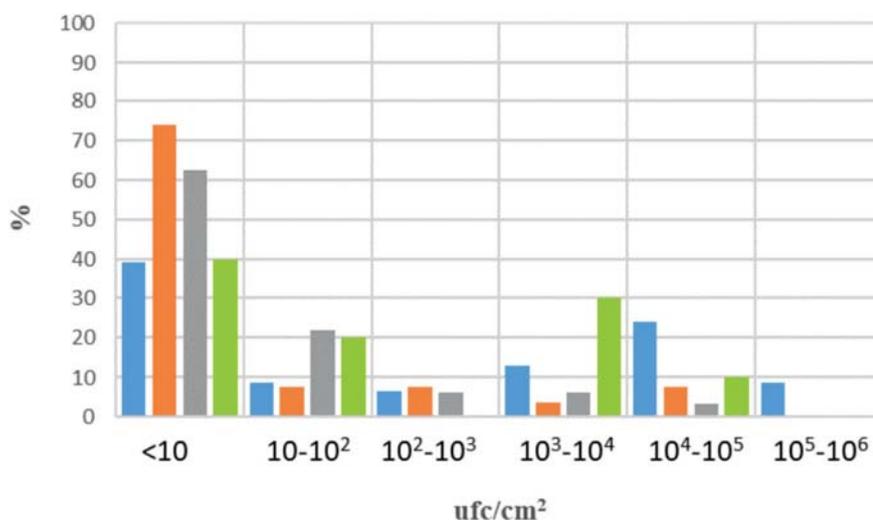
Porcentaje de muestras, de las obtenidas semanalmente durante un mes en las 3 empresas, que presentaron diferentes niveles de contaminación (ufc/cm²) de mohos en función de la zona muestreada



■ Zona 1: zona de contacto directo con el alimento; ■ Zona 2: zona de no contacto próxima al alimento; ■ Zona 3: zona de no contacto alejada, pero dentro de la zona de producción del alimento y ■ Zona 4: zona de no contacto de fuera del área de producción del alimento.

FIGURA 5

Porcentaje de muestras, de las obtenidas semanalmente durante un mes en las 3 empresas, que presentaron diferentes niveles de contaminación (ufc/cm²) de levaduras en función de la zona muestreada



■ Zona 1: zona de contacto directo con el alimento; ■ Zona 2: zona de no contacto próxima al alimento; ■ Zona 3: zona de no contacto alejada, pero dentro de la zona de producción del alimento y ■ Zona 4: zona de no contacto de fuera del área de producción del alimento.

Pseudomonas spp. comprenden bacilos rectos o ligeramente curvados, oxidasa positivos y aerobios estrictos. Los miembros de este género, normalmente, son móviles por un flagelo polar, catalasa positivos y no forman esporas. Algunas especies sintetizan una cápsula de exopolisacáridos que facilita la adhesión y la formación de biofilms o biopelículas que las protegen. Por ello, estas bacterias alterantes de alimentos suelen ser persistentes, ya que su capacidad para formar biofilms aumenta su resistencia a los desinfectantes (Fuster i Valls, 2006).

Mohos y levaduras

De forma habitual, los ambientes húmedos también favorecen la presencia de otros microorganismos como los mohos y levaduras. En el presente estudio el recuento de mohos y levaduras se realizó de forma independiente, por lo que los resultados obtenidos se muestran en la **figura 4** para mohos y en la **figura 5** para levaduras.

Como se observa en la **figura 4**, la mayor parte de las muestras analizadas presentaron recuentos inferiores a 10 ufc/cm² (72 % para la zona 1, 85 % para la zona 2, 75 % para la zona 3 y 60 % para la zona 4). La mayoría de muestras con recuentos superiores a 10 ufc/cm² fueron, nuevamente, superficies de polietileno, sumideros y básculas de suelo, es decir, aquellas asociadas a condiciones de humedad.

Respecto a los recuentos de levaduras (**figura 5**) un número considerable de las muestras de la zona 1 y las de la zona 4 presentaron recuentos >10 ufc/cm² (en un 61 % en la zona 1 y en un 60 % en la zona 4). Por el contrario, el 74 % de las

muestras de la zona 2 y el 62 % de la zona 3 presentaron un nivel de levaduras <10 ufc/cm². En el caso de la zona 1, este alto porcentaje de muestras con elevados recuentos de levaduras podría explicarse porque el número de superficies de polietileno analizadas fue superior al resto. Como se indicó anteriormente, en estas superficies se ve favorecida la presencia de flora que muestra mayor resistencia a los desinfectantes utilizados en el proceso de limpieza y desinfección (Bagge-Ravn y col., 2003). Respecto a la zona 4, esta zona incluyó superficies con un secado deficiente, etapa importante que debe llevarse a cabo tras el proceso de higienización para minimizar la proliferación de microorganismos ya que, la presencia de agua permite su supervivencia, su crecimiento y la formación de biofilms (Wildbrett, 2000).

Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes

Por último, respecto a la evaluación de *Listeria*, en todos los casos en los que se detectó *Listeria* spp se confirmó la presencia de *Listeria monocytogenes*. De forma general, el porcentaje de muestras positivas obtenido fue del 5,59 %. Por zonas, el porcentaje de positivos fue del 0,6 % en la zona 1, del 0,0 % en la zona 2, del 1,9 % en la zona 3 y del 3,1 % en la zona 4. Claramente, en las zonas en las que mayor número de superficies “inaceptables” fueron detectadas, el porcentaje de positivos de *Listeria monocytogenes* fue mayor. En este sentido, la falta de rigor en el secado de superficies tras el proceso de higienización estaría favoreciendo la formación de biofilms en las mismas y, por consiguiente, disminuyendo la eficacia del proceso de limpieza y desinfección. Los biofilms son estruc-

turas que permiten que los microorganismos patógenos permanezcan en las instalaciones durante largos periodos de tiempo y posibilita que algunas cepas se adapten a entornos hostiles y desarrollen mecanismos de resistencia, aumentando, de este modo, las posibilidades de contaminación cruzada de los alimentos (Fox y col., 2011).

Conclusión

Teniendo en cuenta los resultados mostrados, es evidente que los protocolos de limpieza y desinfección deben ser sistemas dinámicos, que deben ser verificados de forma periódica para comprobar su eficacia, y, en caso de que sea necesario, establecer las medidas oportunas para mejorarla. Además, tan importante como utilizar los productos específicos para cada área y superficie y una adecuada rotación del tipo de desinfectante a utilizar, es la continua recualificación del personal encargado de la limpieza y desinfección; formación en la que se debe hacer especial hincapié en la etapa de secado tanto de superficies visibles como no visibles. Y por supuesto, es fundamental crear conciencia de la importancia del trabajo que desarrollan para garantizar la seguridad alimentaria y evitar la aparición de toxiinfecciones alimentarias.

Agradecimientos

Este estudio ha sido realizado dentro del proyecto IBERIC-SENSOTRACING cofinanciado con fondos FEADER (Fondo Europeo Agrícola de Desarrollo Rural).

Líderes en higiene sostenible



SOLULIM
HIGIENE ALIMENTARIA, S.L.

www.solulim.com



CERCANÍA



FLEXIBILIDAD



COMPROMISO
AMBIENTAL



INNOVACIÓN



CALIDAD

- Innovación en los procesos de limpieza y desinfección.
- Especialización en protocolos de patógenos en la industria alimentaria.
- Asesoramiento y auditoría en sostenibilidad ambiental.



@Solulim



Solulim Higiene Alimentaria



Bibliografía

- **Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición - AESAN** (2022). Alertas alimentarias de interés general. https://www.aesan.gob.es/AE-COSAN/web/seguridad_alimentaria/subseccion/otras_alertas_alimentarias.htm
- **Bagge-Ravn, D.** (2003). The microbial ecology of processing equipment in different fish industries—analysis of the microflora during processing and following cleaning and disinfection. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3), 239–250.
- **Fagerlund, A.; Langsrud, S.; y Møretro, T.** (2021). Microbial diversity and ecology of biofilms in food industry environments associated with *Listeria monocytogenes* persistence. *Curr. Opin. Food Sci.*, 37: 171-178.
- **Fox, E.M.; Leonard, N. y Jordan, K.** (2011). Molecular Diversity of *Listeria monocytogenes* Isolated from Irish Dairy Farms. *Foodborne Pathogens and Disease* 8 (5): 635-641.
- **Fuster i Valls N.** (2006). Importancia del control higiénico de las superficies alimentarias mediante técnicas rápidas y tradicionales para evitar y/o minimizar las contaminaciones cruzadas. Tesis doctoral Departamento de Ciencia Animal y de Alimentos de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Barcelona.
- **Garriga Turón, M.; Fadda, S. y Aymerich Calvet, M. T.** (2006). Perfil de la microbiota en equipamiento de empresas tradicionales de embutidos crudo-curados. *euocarne*, 149: 1-6.
- **Moragas, M. y Valcárcel, S.** (2022). Recopilación de normas microbiológicas de los alimentos y asimilados y otros parámetros físico-químicos de interés sanitario. https://www.euskadi.eus/contenidos/informacion/cont_alim_seg_micro/es_def/adjuntos/NORMAS-MICROBIOLOGICAS-ALIMENTOS-2022.pdf.
- **Tirado, C.; Schmidt, K.** (2001). WHO surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications: preliminary results and trends across greater Europe. World Health Organization. *Journal of Infection*, 43 (1): 80-84.
- **Wildbrett, G.** (2000). Limpieza y desinfección en la industria alimentaria. Ed. Acribia. Zaragoza.
- **Zhang, H.; Que, F.; Xu, B.; Sun, L.; Zhu, Y.; Chen, W.; Ye, Y.; Dong, Q.; Liu, H. y Zhang, X.** (2021). Identification of *Listeria monocytogenes* contamination in a ready-to-eat meat processing plant in China. *Front. Microbiol.*, 12: 1-8. **e**