

# INFORME TÉCNICO LISTERIA MONOCYTOGENES



DEPARTAMENTO TÉCNICO  
PROQUIMIA

[alimentaria@proquimia.com](mailto:alimentaria@proquimia.com)  
[www.proquimia.com](http://www.proquimia.com)



## ***LISTERIA MONOCYTOGENES***

<b>1. Introducción histórica</b>	<b>02</b>
<b>2. Características básicas de la bacteria</b>	<b>03</b>
<b>3. Biofilms</b>	<b>03</b>
3.1. Definición	03
3.2. Factores que favorecen su desarrollo	03
3.3. Mecanismos de formación	04
3.4. Consecuencias de la formación de biofilms	04
<b>4. Origen de la contaminación en los alimentos</b>	<b>05</b>
<b>5. Listeriosis</b>	<b>05</b>
<b>6. Medidas preventivas</b>	<b>07</b>
<b>7. Proceso de limpieza y desinfección</b>	<b>08</b>
7.1. Recomendación general	08
7.2. Tratamiento preventivo contra biofilms	09
7.3. Tratamiento curativo de biofilms	09
7.4. Desinfección ambiental	10
<b>8. Tecnología enzimática frente a biofilms</b>	<b>11</b>
<b>9. Recomendaciones complementarias</b>	<b>11</b>
<b>10. Test rápidos de control de higiene</b>	<b>12</b>
<b>11. Problemas derivados del diseño de instalaciones</b>	<b>13</b>
<b>12. Medidas de higiene personal</b>	<b>13</b>
<b>13. Principales desinfectantes recomendados</b>	<b>14</b>
13.1. Glutaraldehído	14
13.2. QAC	14
13.3. Trialquilaminas	14
13.4. Cloro	15
13.5. Ácido peracético	15
<b>14. Ventajas e inconvenientes de los desinfectantes</b>	<b>15</b>
<b>15. Las soluciones de Proquimia</b>	<b>16</b>

# INFORME TÉCNICO LISTERIA MONOCYTOGENES



## 1. INTRODUCCIÓN HISTÓRICA

---

- *Listeria monocytogenes* fue descrita por primera vez en 1926 cuando fue aislada de conejos enfermos con un nivel de monocitos anormalmente elevado (Murray et al. 1926)
- Se le designó originalmente *Bacterium monocytogenes*. Más tarde, en 1941, en honor a Lord Lister, se le cambió el nombre por el de *Listeria monocytogenes*.
- Provoca infecciones asociadas al consumo de alimentos contaminados: **listeriosis**.
- Los síntomas aparecen al cabo de 2-90 días después y se convierten en graves para grupos de riesgo.
- El primer brote de listeriosis descrito se remonta a 1981 en Canadá (ensalada de repollo): 41 casos y 18 muertes (principalmente embarazadas y neonatos).

## 2. CARACTERÍSTICAS BÁSICAS DE LA BACTERIA

1. **Bacilo Gram positivo.** Son aquellas bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram.
2. **Anaerobio facultativo.** Pueden obtener energía tanto por respiración en presencia de oxígeno, como por fermentación en ausencia de oxígeno.
3. **Psicótrofo.** Organismo mesófilo que puede crecer a temperaturas bajas. Son capaces de crecer en condiciones de refrigeración. Capaz de proliferar en un amplio rango de **temperaturas (-0.4°C a 45°C)** y una elevada concentración de sal (20%).
4. Es **catalasa positivo.** La catalasa es una enzima que descompone al peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua.
5. **Ubicuo.** Lo podemos encontrar en diferentes medios. Tierra y agua. Es una bacteria con extensa distribución en el ambiente y no se comporta de modo muy diferente a otras bacterias. Es fácil de eliminar.
6. **No presenta cápsula ni espora.**
7. 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.
8. Crece en un amplio margen de **pH: 4,39 - 9,40.**
9. Forma **biofilms** que desarrollan resistencias a la acción de los desinfectantes.

## 3. BIOFILMS

### 3.1. DEFINICIÓN

Los biofilms son estructuras complejas formadas por microorganismos que se fijan firmemente a una superficie mediante una matriz extracelular (conocida como EPS "extracelular polymeric substance" o exopolisacárido), generada por excreciones de los propios microorganismos y compuesta principalmente por polisacáridos y proteínas.

Aunque los biofilms pueden estar formados por una única especie, habitualmente se presentan en forma de estructuras compuestas por varias bacterias, así como otro tipo de microorganismos o residuos presentes en las superficies. La morfología de los biofilms puede variar dependiendo del tipo de superficies donde se desarrollan, tipo de organismos que los forman, viabilidad celular, tiempo de vida, espesor, etc.

Esta estructura permite la proliferación de los microorganismos, proporcionándoles un medio de protección, con las condiciones óptimas de humedad y disponibilidad de nutrientes.

La formación de los biofilms se produce cuando las bacterias se adhieren a las superficies y empiezan a excretar sustancias viscosas que favorecen su anclaje a todo tipo de materiales, tales como metales, plásticos, etc.

Una vez las bacterias se han adherido a la superficie y el biofilm empieza a formarse, su crecimiento se acelera, ya que el mecanismo de adhesión a la matriz se simplifica para las nuevas bacterias, que además desarrollan mecanismos de relación y dependencia entre ellas.

### 3.2. FACTORES QUE FAVORECEN SU DESARROLLO

Los biofilms pueden formarse en cualquier medio que presente condiciones de humedad, temperatura y aporte de nutrientes adecuadas para el crecimiento bacteriológico, tales como superficies abiertas o circuitos, ya sea en industrias alimentarias, hoteles, hospitales, etc.

Por consiguiente, la presencia de suciedad o incrustaciones constituyen un sustrato ideal para el desarrollo de los biofilms. La estructura de la superficie también afecta en el proceso de formación; superficies poco uniformes o de alta porosidad, favorecen el anclaje, sea cual sea el material (acero inoxidable, teflón, plásticos, etc.).

Los principales factores que favorecen el desarrollo de un biofilm pueden clasificarse en:

- **Microorganismos:** especies, concentración, etc.
- **Características del sustrato:** material (acero inoxidable, teflón, plástico, etc.), rugosidad, forma (superficies abiertas, circuitos/tuberías, zonas de difícil acceso, etc.)... Es importante pues considerar este factor durante la fase de diseño de la instalación, para minimizar los riesgos de formación de los biofilms.
- **Condiciones medioambientales:** temperatura, humedad, aporte de nutrientes, nivel de higiene, aireación, etc.

### 3.3. MECANISMO DE FORMACIÓN

El mecanismo de formación de los biofilms ha sido fuente de numerosos estudios científicos. Aunque es aún necesaria una mayor profundización en el conocimiento de los mecanismos, estos estudios han puesto de manifiesto las siguientes etapas en el proceso de desarrollo de las biopelículas:

1. **Invasión:** una célula individual se adhiere de forma leve y débil a una superficie, aprovechando como puntos de anclaje la morfología de la superficie y los residuos superficiales.
2. **Colonización:** consiste en la adsorción y fijación de las células sobre el sustrato, creando colonias bacterianas. Se da en dos fases: una reversible (fuerzas van der Waals y electrostáticas) y otra irreversible (anclaje a través de la formación de la matriz EPS). Esta fase se produce en un corto intervalo de tiempo, que puede oscilar de minutos a horas, según condiciones de temperatura, nutrientes, humedad, etc.
3. **Maduración (o formación del biofilm):** se forma una estructura organizada de células bacterianas y matriz EPS, adaptada a la disponibilidad de nutrientes, humedad y oxígeno del medio. Se desarrollan también mecanismos de cooperación entre especies. Las bacterias que forman el biofilm se adaptan al nuevo entorno mediante la síntesis de nuevas proteínas y enzimas, que mejoran su resistencia al ambiente. Pueden formarse distintas capas, con la posibilidad de desarrollar un biofilm anaeróbico debajo de uno aeróbico.
4. **Crecimiento y dispersión:** liberación de células del biofilm en forma planctónica, lo que favorece la dispersión y colonizan de nuevas zonas.

### 3.4. CONSECUENCIAS DE LA FORMACIÓN DE BIOFILMS

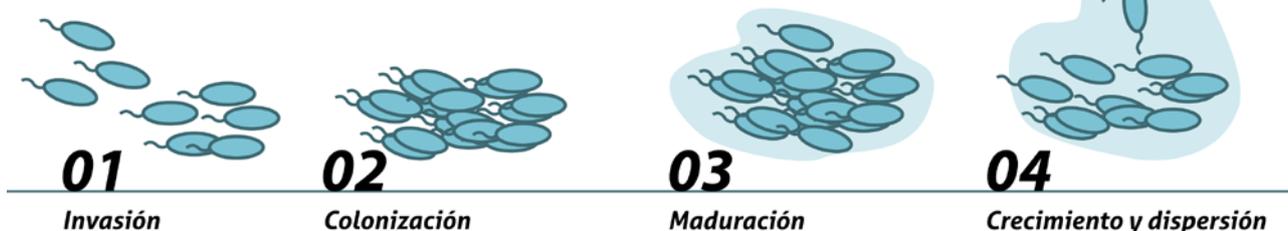
Las consecuencias de la formación del biofilm varían según el sistema o proceso afectado, pudiendo originar importantes problemas de seguridad alimentaria y generar elevados costes tecnológicos. En ambientes industriales, pueden provocar la contaminación de los productos elaborados (alimentos, productos farmacéuticos, cosméticos, etc.), al constituir un reservorio perfecto para organismos patógenos (*Listeria*, *Salmonella*, *Escherichia coli*,...) y, al mismo tiempo, ocasionar la reducción del rendimiento de las instalaciones, por formación de obstrucciones de tuberías o capas de corrosión.

La matriz extracelular que forma el biofilm actúa como protector de las bacterias y barrera de difusión física y química, por lo que dificulta la penetración de agentes antimicrobianos, imposibilitando una correcta actuación de los protocolos de limpieza y desinfección. Adicionalmente, también aumentan los mecanismos de resistencia de los microorganismos, que se adaptan al nuevo entorno que genera el biofilm.

Unas deficientes condiciones higiénicas en las superficies alimentarias suponen un riesgo de contaminación microbiológica, pudiendo ocasionar brotes de enfermedades transmitidas por alimentos. La formación de biofilms sobre estas superficies aumenta exponencialmente este riesgo, debido a las características de la biocapa:

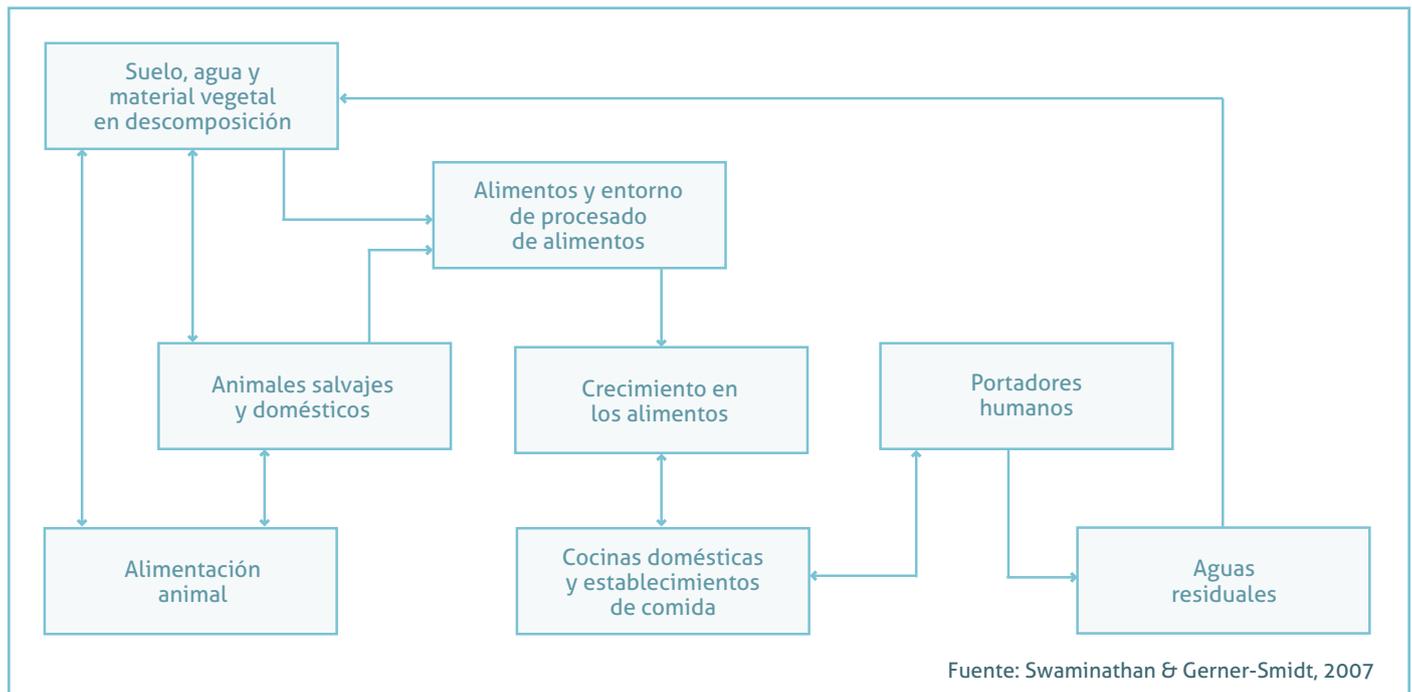
- Rápida velocidad de formación de los biofilms (apenas unas horas en condiciones favorables).
- Capacidad de propagación y recolonización.
- Resistencia a procesos de limpieza y desinfección (los biofilms pueden resultar entre 10 y 100 veces más resistentes que las bacterias en suspensión).
- Crecimiento en zonas de difícil acceso (puntos críticos).
- Dificultad que presenta su muestreo, detección (tamaño microscópico) y control.

#### Mecanismo de formación de los biofilms



#### 4. ORIGEN DE LA CONTAMINACIÓN EN LOS ALIMENTOS

1. Origen **ambiental**. La *Listeria* está ampliamente distribuida en el ambiente: tierra, agua, alcantarillado...
2. Posible transmisión **humana** (más del 5% de humanos son portadores).
3. Posible transmisión por **animales** vivos: pájaros, roedores, insectos...
4. Posible transmisión por **alimentos** crudos: vegetales, leches crudas o quesos suaves, carne cruda y derivados, pescados, mariscos...
5. Transmisión a través de **aguas** contaminadas: reflujos, desagües...
6. Transmisión por **aerosoles** al usar equipos de limpieza de alta presión.



#### 5. LISTERIOSIS

##### ¿Qué es la listeriosis?

- Es una infección grave causada habitualmente por la ingestión de alimentos contaminados por la bacteria *Listeria monocytogenes*.
- El reservorio de la bacteria puede ser el agua, la tierra o las heces de los animales.
- Tiene un periodo de incubación de 2 a 90 días.

##### ¿Qué enfermedades produce?

- **Embarazadas:** enfermedad leve parecida a la gripe. Las infecciones durante el embarazo pueden causar aborto, muerte fetal, parto prematuro o infección grave para el bebé.
- **Personas no embarazadas:** desde cuadros leves en personas sanas de gastroenteritis a infección generalizada, meningitis o abscesos cerebrales en pacientes inmunodeprimidos.

##### Grupos de riesgo

- Niños pequeños, mujeres embarazadas, tercera edad (>65 años), personas con sistema inmune deprimido (SIDA, cáncer...).
- Las personas con un sistema inmune en buen estado, generalmente no sufren la enfermedad.
- El **15-25%** de las personas infectadas **fallece**.

##### Transmisión

- Consumo de alimentos contaminados.
- Raramente por transmisión cruzada en hospitales.

##### Epidemiología

- Como podemos ver en las siguientes dos tablas, la incidencia de la listeriosis en comparación con otras enfermedades provocadas por microorganismos, como *Salmonella* o *Staphylococcus*, es muy escasa.
- Por el contrario, la gran preocupación es que la mortalidad en humanos asociada a la listeriosis es muy superior a otras enfermedades de origen microbiológico.

AGENTE CAUSAL	2008-2011	
	N	%
Bacillus cereus	34	1,5%
Brucella spp	8	0,43%
Campylobacter spp	33	1,4%
Clostridium botulinum	7	0,3%
Clostridium perfringens	49	2,1%
Clostridium spp	9	0,4%
<i>E. coli</i> verotoxigénico O157	3	0,1%
<i>E. coli</i> patogénico	13	0,6%
<i>Listeria</i> spp	1	0,0%
<i>Salmonella</i> (total)	938	40,1%
- <i>Salmonella</i> Enteritidis	475	20,3%
- <i>Salmonella</i> Typhimurium	39	1,7%
- Otras salmonelas	18	0,8%
- <i>Salmonella</i> spp	404	17,3%
- <i>Salmonella</i> Typhi y Paratyphi	2	0,1%
<i>Shigella</i> spp	5	0,2%
<i>Staphylococcus</i> spp	46	2,0%
<i>Staphylococcus aureus</i>	91	3,9%
<i>Streptococcus</i> spp	1	0,0%
<i>Vibrio</i> spp	7	0,3%
Otras bacterias	25	1,1%
Anisakis	5	0,2%
Trichinella spp	11	0,5%
Norovirus	111	4,7%
Rotavirus	5	0,2%
Virus hepatitis A	26	1,1%
Otros virus	27	1,2%
Biotoxina Marina	4	0,2%
Ciguatoxina	6	0,3%
Compuestos químicos	8	0,3%
Ester ceroso	5	0,2%
Histamina/escombrido	88	3,8%
Hongo tóxico	42	1,8%
Plantas tóxicas	7	0,3%
Desconocido	727	31,0%
<b>TOTAL</b>	<b>2.342</b>	<b>100%</b>

Fuente: Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica.  
Elaboración: Centro Nacional de Epidemiología.

#### LISTERIOSIS HUMANA EN LA UE

##### Datos EFSA (2017):

En 2009 se confirmaron:

- 246.158 Campilobacteriosis
- 91.662 Salmonelosis
- **2.480 Listeriosis**

El total de casos confirmados de listeriosis se ha visto incrementado los últimos años: 1.645 en 2011 vs 2.480 en 2017.

La mortalidad de los casos de listeriosis, se ha visto reducida de 270 en 2011 vs 225 en 2017, esto supone un 6% menos de mortalidad.

Muertes humanas en 2017

- **L. monocytogenes 225**
- Salmonella 156
- Campylobacter 45



## 6. MEDIDAS PREVENTIVAS

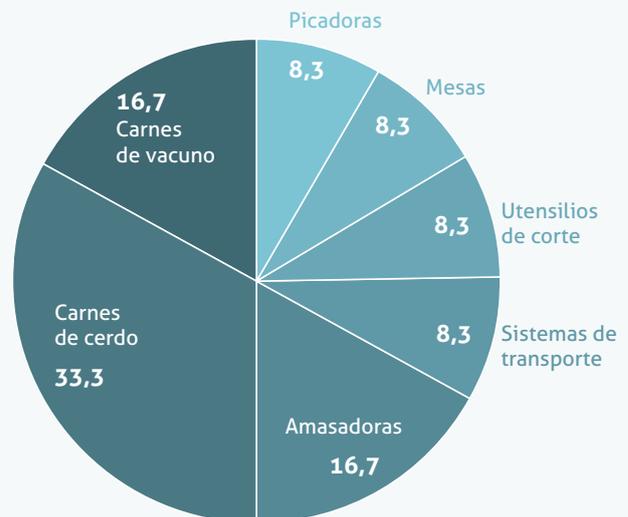
1. No muy diferentes de las necesarias para prevenir otras contaminaciones de origen alimentario como la salmonelosis.
2. Realizar tratamientos térmicos del alimento más severos.
3. Aplicación de APPCC con el fin de mejorar todos los procesos.
4. Evitar la contaminación cruzada entre ambiente de zonas limpias y sucias.
5. Evitar la contaminación cruzada entre alimentos crudos y procesados. No almacenar juntos.
6. Almacenar los alimentos protegidos de la contaminación ambiental.
7. Mantenimiento higiénico de las instalaciones a lo largo de todo el proceso productivo.
8. Formación constante de trabajadores. Importante hacer hincapié en el secado de suelos, evitar charcos, limpieza de desagües, desinfección ambiental, cambios de temperatura en las salas para favorecer la competencia de microorganismos...
9. Control de *Listeria spp* en superficies y ambiental.

### **Listeria monocytogenes**

Detectada en el 10% de equipamiento (limpio y desinfectado) empresas productoras de carne picada y preparados de carne

*L. monocytogenes* (%) en las muestras de equipamiento y materia prima positivas para la presencia del patógeno

Gráfico que demuestra que las medidas preventivas no se están aplicando o se aplican de forma incorrecta, ya que se encuentra *L.monocytogenes* en un 10% de las superficies teóricamente limpias y desinfectadas.



### **Prevención**

*L. monocytogenes* prefiere ambientes fríos y húmedos, y aventaja, en dichas condiciones, a otros microorganismos. Frecuente en plantas de procesamiento de alimentos:

*El patógeno Listeria no presenta ninguna resistencia especial a las sustancias activas y desinfectantes que Proquimia ofrece para las operaciones de desinfección en la industria alimentaria. Nuestros productos utilizados correctamente en rutinas de higiene, resultan un arma completamente efectiva a la hora de controlar este patógeno y evitar problemas de contaminación cruzada y riesgos sanitarios.*

La prevalencia de *Listeria monocytogenes* en las instalaciones de procesamiento en América del Norte y Europa.

Instalación	Predominio
Procesado de queso	8%
Procesado de leche	23%
Helado	6%
Procesado de carne	28-92%
Procesado de aves de corral	13,3%
Procesado de pescado	12,8%
Refrigeradores domésticos	20%

Fuente: Kornacki & Gulter, 2007

## 7. PROCESO DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

### 7.1. RECOMENDACIÓN GENERAL PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA:

1. Iniciar la limpieza inmediatamente después de haber finalizado el proceso de producción para evitar resecado de residuos.
2. Preparar todos los productos, equipos de protección individual, material y maquinaria de limpieza, para llevar a cabo el proceso de limpieza y desinfección.
3. Desconectar toda la maquinaria de producción antes de iniciar los trabajos de higienización.
4. Recubrir equipo eléctrico con funda plástica y ordenar la sala: retirar carros, cubos, restos de producto, embalajes, bolsas de residuos...
5. Desmontar la maquinaria para poder eliminar todos los restos sólidos y la suciedad más grosera y depositarla en receptáculos.
6. Retirar mediante pala o con ayuda de cepillo los depósitos de suciedad de suelos, raspando, cepillando o con ayuda de la manguera conectada al equipo SPITFOAM SYSTEM. Comenzar con la parte alta y concluir por la baja en la limpieza de equipos y paredes, en dirección a los desagües, sin dejar acumular en éstos.
7. Llevar a cabo un pre-enjuagado de acción reblandecedora y eliminar los residuos mayores y solubles en agua a 40-45°C. No limpiar a una temperatura superior ya que provocaría desnaturalización de proteínas y una mayor adherencia.
8. Aplicar detergente (alcalino / enzimático) en forma de espuma: aplicar espuma de arriba abajo cubriendo todas las superficies con una capa no superior a 1 cm, para evitar que pese demasiado y reduzca el tiempo de permanencia.
9. Después de aplicar la espuma dejar un tiempo de contacto de 15-20 minutos, y aprovechar para frotar con cepillos las superficies más críticas por su contacto directo con alimentos y/o por su rugosidad (teflones, cintas transportadoras, suelos...).
10. Para facilitar el desprendimiento de la suciedad, enjuagar la zona con agua caliente ya que ésta es más eficaz para eliminar grasas.
11. Inspección visual del estado de limpieza una vez retirada la espuma de los equipos y corrección de posibles deficiencias (restos de materia orgánica...).
12. Periódicamente y en función de la calidad del agua, aplicar un detergente desincrustante después de esta fase para eliminar incrustaciones calcáreas u óxido, siguiendo la misma metodología que la descrita en los puntos 8, 9 y 10.
13. Asegurar la desinfección de las instalaciones mediante la aplicación de un producto desinfectante a la dosis de 0.5-2% y un tiempo de contacto de 15-25 minutos en todas las superficies incluyendo maquinaria, paredes, suelos...
14. Aclarado del desinfectante con agua, si es fría mejor. En superficies que no están en contacto con alimentos se puede obviar este enjuague para evitar re-contaminación durante el enjuague de superficies críticas y aumentar el tiempo de contacto y mantener protegida la instalación de posibles re-contaminaciones.
15. Retirar protecciones de cuadros eléctricos, limpiar y recoger utensilios de limpieza y guardarlos de tal manera que se asegure su secado.
16. Evitar contaminaciones durante la preparación de la maquinaria de producción, dotando al personal de mantenimiento de guantes y de un pulverizador con desinfectante hidro-alcohólico, para utilizar en los lugares donde haya existido manipulación.
17. Eliminar las posibles acumulaciones de agua y/o humedad en máquinas o utensilios favoreciendo su escurrido por gravedad y mediante el barrido con haraganes del suelo, así como, si es posible, el arranque de los sistemas de acondicionamiento de aire.

## 7.2. TRATAMIENTO PREVENTIVO CONTRA BIOFILMS

El protocolo de limpieza y desinfección recomendado por Proquimia para realizar un tratamiento preventivo frente a la aparición de biofilm, es el siguiente:

ETAPAS	PRODUCTO	CONC.	Tº
1 Limpieza	VIXFILM	5%	50°C
2 Enjuague	Agua		Ambiente
3 Desinfección	PRODESIN SF	3%	Ambiente
4 Enjuague	Agua		Ambiente

Protocolo de limpieza y desinfección. Tratamiento preventivo biofilm

El uso de la tecnología de limpieza film desarrollada por Proquimia permite conseguir tiempos de permanencia máximos, facilitando además el acceso de las soluciones de limpieza a las zonas más inaccesibles de la instalación. Esta tecnología ha mostrado total eficacia para la eliminación de la matriz EPS de los biofilms, además de realizar un efecto higienizante que facilita la actuación del desinfectante en la etapa posterior.

En caso de ser necesario un tratamiento curativo, es aconsejable realizar una auditoría de la instalación, con el fin de definir los motivos que han ocasionado la situación, y así tomar las medidas correctoras adecuadas.

## 7.3. TRATAMIENTO CURATIVO DE BIOFILMS

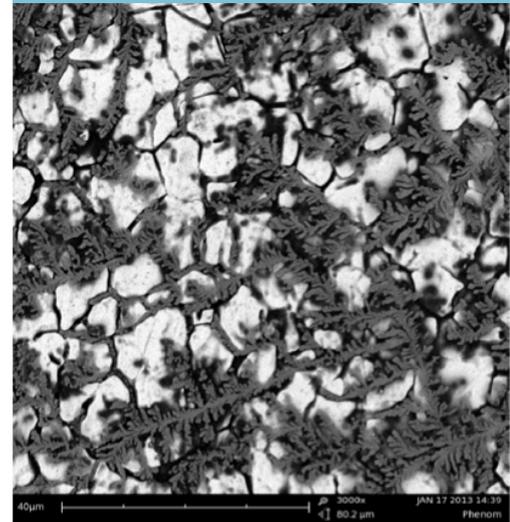
Protocolo curativo, diseñado para eliminar biofilm y reducir la contaminación microbiológica:

- Una vez detectada la presencia de *Listeria* reforzar los procesos detallados en el punto 7.1, limpiando y desinfectando enérgicamente todas las superficies, mediante métodos mecánicos (agua a presión, frotado con cepillos...) y químicos para eliminar la posible capa de biofilm formado. En el momento de aplicación del detergente realizar la limpieza con el producto **VIXFILM** a una dosis del 10%.
- Enjuagar y aplicar el desinfectante testado frente *Listeria* **PRODESIN SF** mediante inundación de todas las superficies a una dosis del 3 %.

ETAPAS	PRODUCTO	CONC.	Tº
1 Limpieza	VIXFILM	10%	50°C
2 Enjuague	Agua		Ambiente
3 Desinfección	PRODESIN SF	3%	Ambiente
4 Enjuague	Agua		Ambiente

Protocolo de limpieza y desinfección. Tratamiento curativo biofilm

Como podemos ver en las siguientes imágenes obtenidas por SEM (Scanning Electron Microscope), la tecnología química permite una eficaz eliminación de la matriz EPS del biofilm, y al mismo tiempo realizar un efecto higienizante que facilita la actuación del desinfectante en la etapa posterior.



Estructura de un biofilm formado. SEM (Scanning Electron Microscope)

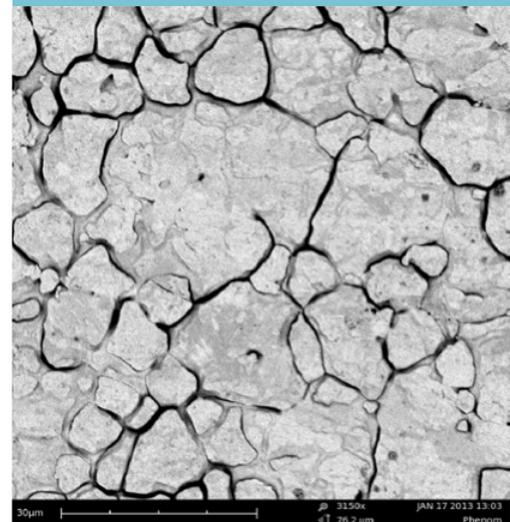


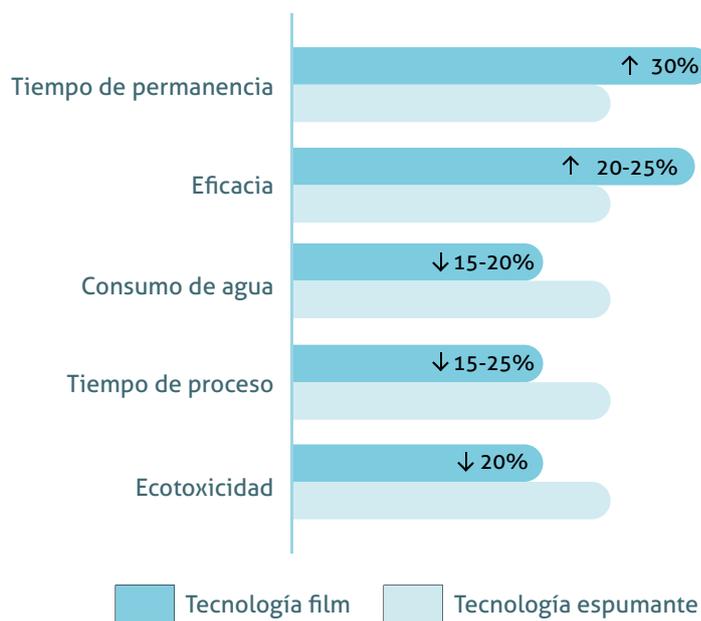
Imagen posterior a la etapa de limpieza alcalina – con VIXFILM - y enjuague: se observa la total eliminación del biofilm formado y la ausencia de bacterias sobre la superficie de inoxidable

El uso de un desinfectante base amonios y aldehído, ha mostrado también eficacia total frente a la contaminación microbiológica, no sólo en forma de bacterias planctónicas, sino formando parte de la estructura del biofilm.

Por lo tanto, para obtener la máxima eficacia del protocolo es importante disponer de fases de limpieza y desinfección separadas, así como conseguir tiempos de permanencia máximos y acceso de las soluciones de limpieza y desinfección a todas las zonas de la instalación. La tecnología film desarrollada por Proquimia permite alcanzar estos objetivos durante la fase de limpieza, además de importantes ventajas adicionales.

**Beneficios de la tecnología film**

Estudio comparativo entre tecnología espumante y tecnología film:



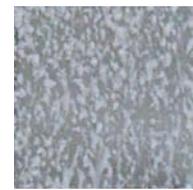
Tecnología Film  
**Minuto 0**



Tecnología Film  
**Minuto 10**



Tecnología Espumante  
**Minuto 0**



Tecnología Espumante  
**Minuto 10**

**7.4. DESINFECCIÓN AMBIENTAL (proceso complementario)**

Con este proceso logramos desinfectar superficies que no se tratan habitualmente como techos, evaporadores, partes altas de la sala así como el aire del ambiente. Debe realizarse en ausencia de personas y alimentos sin cubrir en la zona.

Preparar el equipo de desinfección ambiental y el producto específico.

En función del volumen de la sala aplicar el tiempo de nebulización adecuado para dosificar la cantidad recomendada de producto:

a) AMBISEP PLUS D: 4 – 5 l/1000 m<sup>3</sup> (plazo seguridad 12 h)

b) AMBISEP DR: 2 -3 l/1000 m<sup>3</sup> (plazo seguridad 3 h)

Respetar el plazo de seguridad detallado antes de entrar en la sala y posteriormente ventilar adecuadamente.

## 8. TECNOLOGÍA ENZIMÁTICA FRENTE A BIOFILMS

Las enzimas son moléculas proteicas que actúan catalizando reacciones químicas sobre cadenas orgánicas, generando sustancias de menor tamaño. Son pues una herramienta muy eficaz para eliminar de forma selectiva una gran variedad de suciedades de origen orgánico.

La tecnología enzimática ha sido utilizada en productos detergentes para una amplia diversidad de aplicaciones. Durante los últimos años, ha aumentado su protagonismo, debido al incremento de la concienciación medioambiental y al desarrollo de procesos de limpieza dirigidos al ahorro energético.

Las enzimas son una excelente herramienta para la prevención y eliminación de biofilms, gracias a su capacidad selectiva de actuación frente a los polímeros que forman la matriz EPS (polisacáridos, proteínas, etc.).

Esta propiedad, combinada con su inocuidad frente a la manipulación y a los materiales, así como las bajas temperaturas de actuación, han originado un aumento del uso de enzimas en procesos de detergencia, tanto preventivos como curativos.

## 9. RECOMENDACIONES COMPLEMENTARIAS

- Disponer de **planes adecuados** de limpieza y desinfección para todas las zonas de la industria: almacenes, muelles, vestuarios... ya que el foco podría localizarse fuera de las salas de producción transmitiéndose posteriormente a éstas.
- Realizar la limpieza y desinfección de los equipos y utensilios con sistemas y productos químicos adecuados, que eliminen los residuos sin dañar los materiales y almacenarlos en condiciones adecuadas (armarios cerrados).
- Limpiar los **equipos/utensilios** inmediatamente después de haberlos utilizado y mantenerlos limpios y secos.
- Utilizar las **concentraciones** y los **tiempos** recomendados de aplicación del desinfectante, pues dosis menores pueden permitir a la bacteria crear resistencias sobre el principio desinfectante.
- **Evitar los ambientes húmedos** dentro de las instalaciones y mantener siempre las superficies lo más secas posible.
- En caso de detectar contaminación persistente, **alternar** con otros desinfectantes (ver el punto 12).
- Mantener los **drenajes y desagües** limpios, secos y vacíos.
- **Evitar hierro oxidado en planta.** Rascar y pintar todos los equipos de hierro ya que es muy habitual la presencia de óxido.
- Realizar **controles microbiológicos** de superficies de *Listeria Spp.* y *Listeria Monocytogenes*, para localizar posibles focos o evolución de éstos.
- Revisar aspectos derivados del **personal de limpieza.**
  - Falta de atención y/o motivación.
  - Responsabilidades no asignadas.
  - Falta de conocimiento o cualificación.
- Revisar **factores de organización** del proceso de limpieza.
  - a) Tiempo para L+D limitado.
  - b) Sólo directrices generales, sin plan concreto.
  - c) No realización de controles microbiológicos.
  - d) Falta de control higiénico con formularios "check-list"
  - e) No cambio de superficies desgastadas.

Sin embargo, la limpieza enzimática implica un coste de aplicación habitualmente superior a otras tecnologías, además de presentar carencias higienizantes, lo que requiere un aumento de los requisitos necesarios en la fase de desinfección.

El uso de tecnología enzimática permite la total eliminación de la matriz EPS del biofilm. Sin embargo, debido a sus condiciones de uso (pH y temperatura), no realiza una acción higienizante total, por lo que la etapa de desinfección final deberá complementar esta carencia.

Se trata pues de una tecnología útil en casos que sea necesario el uso de productos de baja corrosividad, para asegurar la máxima protección de las instalaciones.



“Las enzimas son una excelente herramienta para la prevención y eliminación de biofilms”

Como hemos visto, debemos tener claro que la eficacia del protocolo no sólo va a depender de la correcta selección de los productos químicos, sino de un estricto cumplimiento del proceso y las condiciones de uso definidas:

**Qué** elementos se limpian (forma, material, rugosidad).

**Quién** es el personal encargado de la limpieza.

**Cuándo** hay que limpiar y la periodicidad.

**Cómo** se limpia:

- Concentraciones de productos.
- Tiempos de contacto.
- Temperatura de aplicación.
- Sistema de aplicación que asegure el máximo tiempo de contacto y la accesibilidad a todas las zonas de la instalación, especialmente los puntos críticos.
- Fases del protocolo. Se aconsejan protocolos con fases independientes de limpieza y desinfección.

## 10. TESTS RÁPIDOS DE CONTROL DE HIGIENE

Con el fin de disponer de un sistema de control del protocolo de limpieza y desinfección rápido y sencillo, se han desarrollado varios métodos visuales de validación. Estos métodos, basados en la aplicación de reactivos utilizados en microbiología para la detección de residuos o microorganismos, resultan un excelente complemento, al proporcionar resultados inmediatos que permite tomar acciones correctoras rápidas. Entre ellos, Proquimia recomienda el uso de los siguientes ensayos:

### Reactivos de tinción de la matriz EPS (PROCHECK 1)

Se trata de una combinación de colorantes que tiñen la matriz polimérica extracelular (EPS), lo que permite detectar biofilms generados por bacterias patógenas comunes en la industria alimentaria: *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, etc.

Método rápido y sencillo, que permite obtener resultados en 5 minutos, por simple inspección visual, facilitando el control *in situ* y rutinario de la presencia de biofilm.

Como principales inconvenientes, un elevado límite de detección, la imposibilidad de uso en superficies porosas (para evitar tinciones) y la baja selectividad de los colorantes a la matriz extracelular del biofilm, ya que pueden dar respuesta positiva a otros residuos, tales como proteínas, polisacáridos o grasas. Por lo tanto, antes de la aplicación del reactivo, debe realizarse un adecuado proceso de limpieza, para así evitar falsos positivos ocasionados por higiene incorrecta.

*“Un correcto diseño y aplicación del protocolo de limpieza y desinfección, es la herramienta más segura para evitar la formación de biofilm”*



## Reactivo de detección de bacterias catalasa-positivas (PROCHECK 2)

La catalasa es un enzima comúnmente encontrado en la mayoría de organismos expuestos a oxígeno. Su función es la de catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno (agua oxigenada) en agua y oxígeno.

El test de la catalasa es uno de los principales ensayos utilizados para la identificación de especies en microbiología. Con la simple adición de agua oxigenada sobre la superficie se determina la presencia de bacterias catalasa-positivas. La generación de efervescencia de  $O_2$ , visible a simple vista, permite la detección de estos microorganismos, por lo que resulta un método rápido y sencillo. El método no es indicador de biofilm, aunque si la respuesta es positiva, probablemente las bacterias detectadas estarán presentes formando parte de una biopelícula.

Entre las principales bacterias catalasa-positivas cabe destacar: *Staphylococcus*, *Listeria*, Enterobacterias (*E. coli*, *Salmonella*) y *Pseudomonas*. Bacterias catalasa-negativas son *Streptococcus* y *Enterococcus* spp.

Gracias a los estudios realizados por Proquimia ha sido posible determinar la composición óptima del reactivo de agua oxigenada (PROCHECK 2) para facilitar la visualización de la reacción.

El uso de [ensayos rápidos basados en aplicación de reactivos](#) de tinción de la matriz EPS o de detección de bacterias catalasa-positivas resultan un excelente complemento a los métodos de control microbiológico por recuento, facilitando la evaluación de la presencia de residuos o microorganismos en los puntos críticos del proceso y permitiendo tomar medidas correctoras inmediatas. Sin embargo, estos métodos presentan unos límites de detección elevados y poca selectividad, por lo que únicamente deben utilizarse como control rutinario complementario a los métodos habituales de detección y control.

Gracias a su excelente sensibilidad y selectividad, los métodos de [control microbiológico por recuento](#) son aún imprescindibles para el control rutinario de las condiciones higiénicas de las instalaciones alimentarias.

## 11. PROBLEMAS DERIVADOS DEL DISEÑO DE INSTALACIONES

---

1. Diseños anómalos de maquinaria de producción, que no permiten una correcta limpieza al no poderse desmontar o al existir rincones.
2. Diseños anómalos de edificios que no permiten una correcta limpieza.
3. Materiales no limpiables de utensilios, equipos, maquinarias, suelos, paredes,... ya que no resisten los químicos.
4. Mal estado de suelos o paredes (desconchados, azulejos rotos o insuficientemente sellados...).
5. Mal estado de los materiales de las máquinas (hierro oxidado, gomas, mangueras,...).
6. Sistemas de limpieza que no permitan realizarla con suficientes garantías.

## 12. MEDIDAS DE HIGIENE PERSONAL

---

*Normas aplicables a todo el personal que entre en planta: manipuladores de alimentos, operarios de limpieza, calidad, mantenimiento, visitas externas...*

1. Usar ropa limpia y desinfectada.
2. Limpieza del calzado al entrar del exterior: pediluvios, esterillas, máquinas fregadoras de botas... También empleo de calzado exclusivo en zonas de producción o uso de cubre-botas.
3. Limpieza de manos y antebrazos al acceder a zonas de producción y antes de manipular alimentos. Uso de guantes.
4. No comer, masticar chicle... mientras se esté en planta.
5. Cubrirse el pelo.
6. No llevar joyas u otros objetos.
7. Cubrirse adecuadamente las heridas.

### 13. PRINCIPALES DESINFECTANTES RECOMENDADOS

#### 13.1. GLUTARALDEHIDO

1. Bactericida, fungicida y virucida. También es esporicida.
2. Desnaturaliza las proteínas.
3. Alquila los ácidos nucleicos.

#### 13.2. AMONIOS CUATERNARIOS (QAC) CLORURO DE DIDECILDIMETILAMONIO

1. Más efectivos contra bacterias Gram +.
2. Activos contra virus de cubierta lipídica.
3. Poca efectividad ante hongos.
4. Poca actividad contra esporas.
5. Alteran la membrana celular: penetran en la membrana e interaccionan con los fosfolípidos causando pérdida de material citoplasmático.
6. Desnaturalizan las proteínas.
7. Producen inactivación enzimática.
8. Presentan propiedades tensioactivas.

Concentración de cloruro de didecildimetilamonio	Listeria monocytogenes Typ 4	
	5'	60'
0.05 %	-	-
0.01 %	+	-

Una concentración del 0.05% de cloruro de didecildimetilamonio durante 5 minutos es suficiente para eliminar *Listeria monocytogenes*.

+ = crecimiento  
 - = no crecimiento  
 Las dosis recomendadas de los desinfectantes en las fichas técnicas están muy por encima de los valores de la tabla.

#### 13.3. TRIALQUILAMINAS N-(3-AMINOPROPIL)-N-DODECILPROPANO-1,3-DIAMINA

1. Más efectivas contra bacterias Gram +.
2. Activas contra virus de cubierta lipídica.
3. Poca efectividad ante hongos.
4. Poca actividad contra esporas.
5. Alteran la membrana celular.
6. Desnaturalizan las proteínas.
7. Producen inactivación enzimática.

Una concentración del 0.03% de N-(3-aminopropil)-N-dodecilpropano-1,3-diamina durante 5 minutos es suficiente para eliminar varias cepas distintas de *Listeria monocytogenes*.

Concentración de N-(3-aminopropil)-N-dodecilpropano-1,3-diamina	TEST DE CONTACTO Y TIEMPO											
	L. monocytogenes cepa 13				L. monocytogenes cepa 15				L. monocytogenes cepa 16			
	5'	15'	30'	60'	5'	15'	30'	60'	5'	15'	30'	60'
0.075 %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.030 %	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.015 %	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
0.003 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ = crecimiento  
 - = no crecimiento  
 Las dosis recomendadas de los desinfectantes en las fichas técnicas están muy por encima de los valores de la tabla. Prueba llevada a cabo de acuerdo con las directrices de la Sociedad Alemana de Higiene y Microbiología, publicada por Gustav Fischer Verlag 1981.



### 13.4. CLORO HIPOCLORITO SÓDICO

1. Bactericida, fungicida y virucida. También es esporicida.
2. Efecto oxidante sobre la materia orgánica.
3. Desnaturaliza las proteínas.
4. Bloquea la actividad enzimática.

### 13.5. ÁCIDO PERACÉTICO

1. Bactericida, fungicida y esporicida.
2. Alto potencial oxidante.
3. Provoca ruptura de la membrana celular.
4. Daña los ácidos nucleicos (mutaciones) y lípidos (peroxidación lipídica) causando lisis celular.

## 14. VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LOS DESINFECTANTES

	VENTAJAS	INCONVENIENTES
GLUTARALDEHIDO	Activo en presencia de materia orgánica. Estable en el almacenamiento. Amplio espectro de actuación. Espuma controlada.	Volátil a temperaturas elevadas. Tóxico por inhalación. Corrosivo.
QAC	Baja tensión superficial. Muy estables. No corrosivos ni irritantes. No les afecta la presencia de materia orgánica. Buenos bactericidas. Poder residual.	Incompatibles con tensioactivos aniónicos (presentes en la mayoría de espumantes). Poco eficaces contra esporas. Forman espuma si se aplican mecánicamente. Difíciles de aclarar.
TRIALQUILAMINAS	Muy estables. No corrosivas ni irritantes. No les afecta la presencia de materia orgánica. Buenos bactericidas. Espuma controlada. Buen aclarado. Compatibles con tensioactivos aniónicos (presentes en la mayoría de espumantes).	Poca eficacia contra esporas. Precio.
CLORO	Amplio espectro de actuación. Eficaz a bajas temperaturas. No tiene actividad residual.	Tensión superficial elevada. Pérdida de eficacia en presencia de materia orgánica. Corrosivo (sobre todo en $T^{\circ} > 60^{\circ}\text{C}$ ). Muy inestable. En estado gaseoso es tóxico.
ÁCIDO PERACÉTICO	Amplio espectro germicida. Produce bajos niveles de espuma. Actúa en un amplio rango de temperaturas. Estable al almacenamiento.	Corrosivo. Olor desagradable a elevadas concentraciones. Muy reactivo.

## 15. LAS SOLUCIONES DE PROQUIMIA

### ENZIMAS:

- **ENZIVIX 30:** Detergente neutro enzimático indicado para la limpieza manual y por espuma de todo tipo de utensilios, superficies y maquinaria (tratamiento preventivo).
- **ENZIACTIVE:** Concentrado enzimático para la eliminación de biofilms en la industria alimentaria (tratamiento de choque).
- **ENCIP:** Detergente desincrustante ácido de fase única para uso en la industria alimentaria. Puede aplicarse manualmente, en sistemas automáticos de limpieza (CIP) o en limpieza de moldes de quesería.

### QAC:

- **ASEPVIX:** Detergente **desinfectante** para la limpieza manual y por espuma de todo tipo de superficies, maquinaria y equipos de la industria alimentaria.
- **ASEP 870:** **Desinfectante** de equipos y superficies en la industria alimentaria, de amplio espectro bactericida y fungicida.
- **DEOBACTD:** Detergente bactericida-fungicida para la limpieza y **desinfección** en una sola fase de las superficies en contacto con alimentos.
- **DEOSOL:** Detergente-**desinfectante** formulado a base de amonios cuaternarios. Indicado para desinfectar todo tipo de superficies en la industria alimentaria.
- **AMBISEP D:** **Desinfectante** por vía aérea de aplicación diaria.
- **DESOCAL PLUS D:** Detergente desincrustante, desoxidante y **desinfectante** ácido, para la limpieza con equipos de proyección de espuma de todo tipo de superficies, maquinaria y elementos en la industria alimentaria. Libre de fósforo.
- **ASEP AQ10:** Desinfectante en base a amonios cuaternarios de última generación para la desinfección de superficies, equipos y maquinaria en la industria alimentaria. Excelente espectro bactericida y fungicida. Uso profesional. Registro Plaguicida 16-20-07955 HA

### GLUTARALDEHIDO + QAC:

- **PRODESIN SF:** **Desinfectante** de superficies y equipos, de amplio espectro bactericida y fungicida.

### TRIALQUILAMINAS:

- **ASEP 500:** **Desinfectante** de superficies y circuitos.
- **ASEP TA 35:** Desinfectante en base a alquilaminas, de potente acción bactericida, virucida, fungicida, y levuricida, para la desinfección de superficies y equipos. Adecuado también como desinfectante por vía aérea. Registro Plaguicida 16-20-07979 HA

### CLORO:

- **VIXCLOR:** Detergente **desinfectante** alcalino clorado para la limpieza, por espuma, de todo tipo de superficies, maquinaria y utensilios.
- **VIXCLOR ULTRA:** Detergente desinfectante alcalino-clorado de elevada concentración, para la limpieza y desinfección por espuma en una sola fase de todo tipo de superficies, equipos y maquinaria en la industria alimentaria. Su formulación en base a secuestrantes mejora el aspecto final de las superficies inox, proporcionando un acabado más brillante.
- **VIXCLOR SE:** Detergente **desinfectante** alcalino clorado para la limpieza, por espuma, de todo tipo de superficies, maquinaria y utensilios.
- **CLORFOAM:** Detergente alcalino clorado para la limpieza, por espuma, de todo tipo de superficies, maquinaria y utensilios.
- **ALUVIX:** Detergente alcalino-clorado, inhibido al ataque del aluminio y aleaciones, para la limpieza manual y por espuma de todo tipo de superficies, maquinaria y elementos en la industria alimentaria.
- **ECOPLUS D:** Detergente **desinfectante** alcalino clorado apto para la limpieza y desinfección automática de tanques, circuitos y túneles de lavado.
- **COMBI PLUS D:** Detergente **desinfectante** alcalino clorado apto para la limpieza y desinfección automática de tanques, circuitos y túneles de lavado.
- **BACTOMILK D:** Detergente alcalino clorado apto para la limpieza y **desinfección** automática de tanques, circuitos y túneles de lavado.
- **CLEAN STAR:** Detergente alcalino clorado para la limpieza e higienización automática de tanques, circuitos y túneles de lavado en la industria alimentaria.
- **ASEP 100:** Lejía 100 gramos / litro de hipoclorito sódico.

### ÁCIDO PERACÉTICO:

- **ASEP 45:** Producto en base a ácido peracético para el tratamiento de equipos y circuitos. Con trazador para su utilización en sistemas automáticos CIP.
- **ASEP 150:** **Desinfectante** de superficies, equipos y circuitos basado en ácido peracético al 15%.
- **ASEPBACT:** Producto espumante en base a ácido peracético para el tratamiento de superficies y equipos en la industria alimentaria.

**PROQUIMIA, SA**

**Ctra. de Prats, nº6  
08500 Vic (Barcelona)  
Tel. 93 883 23 53  
Fax 93 883 20 50**

[www.proquimia.com](http://www.proquimia.com)  
[alimentaria@proquimia.com](mailto:alimentaria@proquimia.com)