



Importancia de la limpieza y sanitización de las superficies para prevenir y controlar los biofilms en la cadena cárnica avícola

Prevenir el desarrollo y eliminar los biofilms existentes se relaciona con la seguridad de los alimentos elaborados

Frizzo, L.S. y Rodríguez, R.

La cadena cárnica aviar tiene grandes desafíos para elaborar alimentos de máxima calidad y mantener la inocuidad de sus productos. Dentro de esos retos, están las fallas que pueden ocurrir durante el proceso de limpieza y desinfección, debido a que las mismas pueden favorecer la permanencia sobre las superficies de microorganismos capaces de formar biofilms. La mayoría de las bacterias que se encuentran en los entornos de procesamiento de alimentos después de la limpieza y la desinfección no son patógenas. Es común en la industria alimentaria controlar el nivel de estas cargas ambientales, que se miden durante la verificación del proceso de limpieza y desinfección. Muchas plantas procesadoras de alimentos tienen grandes cantidades de datos cuantitativos sobre la carga bacteriana presente en las superficies de producción. Algunas de estas bacterias, que comúnmente se aíslan en medios de crecimiento no selectivos, pueden considerarse organismos transitorios que ocurren por coincidencia, mientras que otras pueden establecerse, crecer y formar una población bacteriana residencial o bacteriota en los entornos de producción de alimentos.

En general, las bacterias Gram negativas no patógenas, especialmente *Pseudomonas* spp., seguidas de las enterobacterias y *Acinetobacter* spp. dominan en las superficies de las plantas donde se procesan alimentos. En *Pseudomonas* spp. es probable que la persistencia se deba al crecimiento a bajas temperaturas, la formación de biofilms, la tolerancia a los agentes desinfectantes y los bajos requisitos de crecimiento. La importancia de estas bacterias residenciales radica en que pueden terminar en los productos finales a través de la contaminación cruzada y así afectar la calidad de los alimentos. Estos efectos pueden ser negativos para los productos porque conducen a un deterioro prematuro. Las bacterias patógenas presentes en los entornos de las plantas procesadoras de alimentos pueden interactuar con las bacterias residenciales, lo que produce efectos inhibitorios y/o estimulantes sobre los patógenos en los biofilms de múltiples especies. Diferentes tipos de microorganismos patógenos transmitidos por los alimentos de origen aviar pueden formar estas estructuras. Entre ellos se destacan los representantes del género *Salmonella* y *Campylobacter* termotolerantes, que son los principales contaminantes de los productos avícolas y los agentes que representan el mayor riesgo de infecciones transmitidas por los alimentos de este origen a los humanos.

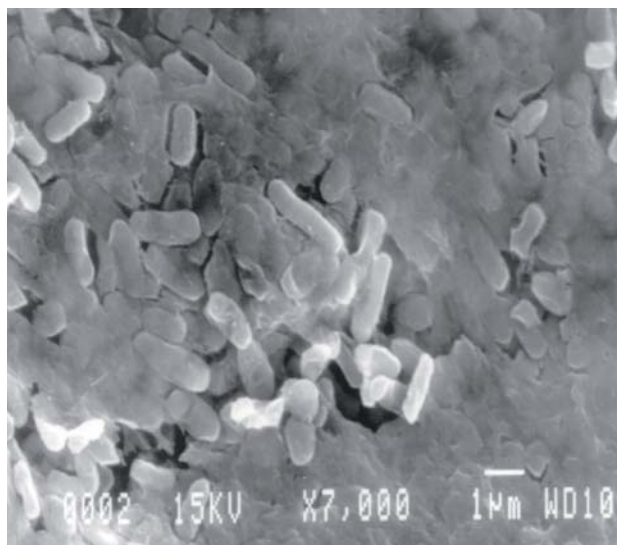
Como hemos visto antes, la maduración de un biofilm es producto de un entramado microbiano en donde los integrantes interactúan empleando moléculas de señalización intercelular (del tipo quimiotácticas o feromonas). Estas moléculas de señalización o quorum sensing son importantes tanto para la maduración del biofilm y su arquitectura como para su disolución. La señalización intercelular es un factor crítico que define la diversidad y distribución de bacterias en los biofilms de múltiples especies. Existen muchos sistemas de quorum sensing en las bacterias. Dos especies muy frecuentes en las plantas aviares -*Escherichia coli* y *Salmonella*- usan lactonas de homoserina aciladas como moléculas de señalización.

La estructura del biofilm maduro varía desde plana y homogénea hasta compleja, lo que depende de la motilidad bacteriana, los EPS sintetizados, la señalización intercelular y los factores ambientales asociados (fuentes de nutrientes, si el

sistema es estático o dinámico, si el flujo del líquido es laminar o turbulento, etc.). Además de esto, la estructura del biofilm depende de si está formado en una interfaz sólido-líquido, líquido-aire o sólido-aire. Estas diferentes configuraciones están influenciadas por las condiciones ambientales, las particularidades del sustrato y las características de las especies y cepas bacterianas que integran el biofilm.

SALMONELLA

Aunque *Salmonella* forma biofilms tanto en el medio ambiente como en los organismos hospedantes, esta estrategia es esencial para su supervivencia en condiciones no hospedantes y estos patógenos se definen correctamente como persistentes ambientales. El biofilm le proporciona una distribución ubicua en el medio ambiente, incluyendo su presencia en el agua, el suelo y las superficies de las plantas procesadoras. Además, *Salmonella* tiene la capacidad excepcional de colonizar y formar biofilms en superficies abióticas, como el plástico, el caucho, el vidrio, el acero inoxidable y el cemento, todos materiales ampliamente utilizados en granjas, frigoríficos y en la industria de procesamiento de alimentos. Las superficies hidrofóbicas se consideran comúnmente sustratos que favorecen la unión de las células bacterianas y la formación de los biofilms más que algunos materiales hidrofílicos, como el vidrio y el acero. Sin embargo, como las propiedades fisicoquímicas de las superficies se ven afectadas por las condiciones ambientales, los procesos de limpieza y desinfección tienen una importancia suprema. En la práctica, la mayoría de las superficies están acondicionadas con una capa



INOCUIDAD

de moléculas orgánicas e inorgánicas, lo que favorece la adherencia de las bacterias.

La formación de biofilms de *Salmonella* depende mucho de sus productos extracelulares y de las estructuras que están en la superficie de las bacterias. La fimbria de Curli es el componente proteico principal de la matriz extracelular en el biofilm de *Salmonella* y *Escherichia coli* y está involucrada en la unión celular inicial a una superficie y la agregación en microcolonias en las primeras etapas del desarrollo del biofilm. En las bacterias, la celulosa es un producto extracelular que favorece las interacciones célula-célula y proporciona protección mecánica y química de las células bacterianas que integran el biofilm. Sin embargo, aunque es importante, la ausencia de celulosa no significa que la cepa no sea productora de biofilms. Las cepas de *Salmonella* que poseen la capacidad de producir fimbria de Curli y celulosa forman el morfotipo rdar, característico de las cepas que forman con éxito biofilms en superficies abióticas.

Los biofilms de *Salmonella* son una fuente de contaminación importante en toda la cadena de producción avícola, contribuyendo con la contaminación persistente de incubadoras, sistemas de suministro de agua en granjas y vehículos de transporte de aves. El control efectivo y la erradicación de *Salmonella* desde las superficies abióticas de las instalaciones es una tarea muy difícil. Por lo tanto, para evitar la acumulación de bacterias patógenas (incluida *Salmonella*), se utiliza el principio de "todo dentro-todo fuera", que implica la limpieza y desinfección de las instalaciones y equipos entre una crianza y otra. Lamentablemente, esta estrategia sola es ineficaz y todavía hay mucho por hacer, al menos cuando se la considera como medida de control de *Salmonella*. La estructura de los biofilms de *Salmonella* cambia con el tiempo, se vuelven más densos y aumentan su resistencia a factores externos, incluidos los desinfectantes. Además, se deben tener en cuenta varios factores al estimar la efectividad de un procedimiento de desinfección: ¿Se han realizado de manera adecuada tanto el proceso de limpieza previo como la desinfección? ¿Las cepas de *Salmonella* han sido resistentes al desinfectante



aplicado o fueron desarrollando esa resistencia a través de la exposición intermitente repetida o durante un período prolongado de exposición?

La persistencia a largo plazo de *Salmonella* en las instalaciones de producción avícola puede verse facilitada por la presencia de algunas otras bacterias con las que producen biofilms de múltiples especies. Por ejemplo, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* afectan positivamente el aumento de la biomasa del biofilm de *Salmonella*. Los biofilms integrados por comunidades de múltiples especies son estructuras más estables en comparación con los biofilms monoespecie que generalmente se investigan en el laboratorio. A su vez, *Salmonella* expresa un importante grado de adhesión al acero inoxidable a 16°C, lo cual podría explicar la persistencia en las instalaciones de procesamiento de las aves y la contaminación repetida en el producto final, lo cual resulta preocupante.

En la cadena de producción avícola, la importancia de los biofilms de *Salmonella* se ha confirmado principalmente en la etapa inicial (producción de alimento para aves) y en las etapas finales (procesamiento de carne, productos y huevos de aves). La producción de alimentos para aves es uno de los puntos críticos en el control de *Salmonella* en granjas avícolas, con una importancia creciente en las últimas décadas. La utilización de materias primas de origen animal en los alimentos para aves aumenta el riesgo de reintroducir patógenos nuevamente en la cadena alimentaria. *Salmonella* en el ali-

mento puede causar colonización e infección de los animales y, en consecuencia, aumentar el riesgo de infección de los humanos que consumen productos derivados de las aves. En algunos estudios se confirmó el papel del alimento como fuente de *Salmonella* responsable de las infecciones en humanos. Sin embargo, es muy difícil definir la fuente de infección en los casos de salmonelosis y, en particular, realizar un análisis retrógrado desde la granja para identificar la causa del problema.

Debido a la capacidad de *Salmonella* para formar biofilms en las instalaciones, superficies de contacto, molinos, picadoras, máquinas emparadoras, pisos, drenajes (contaminación cruzada por polvo y aerosoles), los almacenes de productos finales pueden actuar como fuentes de contaminación a largo plazo una vez terminado el procesamiento. Mantener un ambiente seco es una de las medidas más importantes para la reducción de patógenos en las instalaciones de producción de alimentos para aves, sin embargo, no es efectivo para la reducción de *Salmonella*. El procesamiento térmico de los alimentos también ha sido insuficiente para la eliminación de este patógeno. Algunas cepas son capaces de sobrevivir en las fábricas de alimentos durante meses o incluso años.



En la producción avícola, la aplicación estricta de las medidas de bioseguridad y el manejo adecuado tienen una importancia fundamental, porque sólo estos pueden producir resultados satisfactorios en entornos que son muy difíciles de descontaminar de manera efectiva y donde las fuentes potenciales de *Salmonella* son diversas y numerosas. La formación de biofilms es una capacidad común de diferentes serotipos de *Salmonella* detectados en la producción avícola, lo que sin duda contribuye a su persistencia en todas las etapas de la cadena agroalimentaria. El control de los biofilms, la forma más común de vida bacteriana tanto en el medio ambiente



PACKAGING SUCCESS TOGETHER™



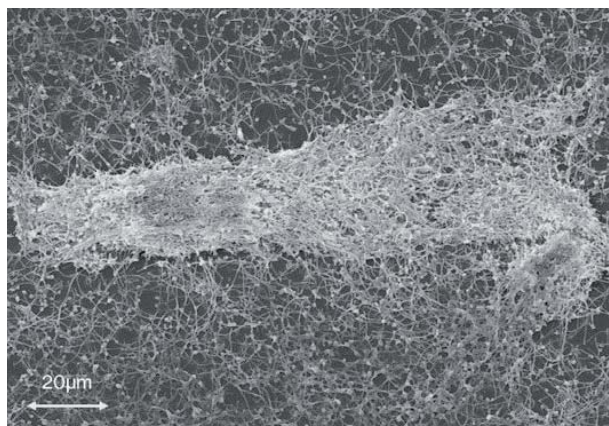
Greif Líder Mundial en productos y servicio de envasado Industrial, con visión en "Ser la Mejor Compañía en Servicio al Cliente del Mundo" produce tambores metálicos y plásticos, bidones de polietileno, baldes plásticos y botellones de policarbonato.

Buenos Aires, Argentina (+54) 11 5169 4700 / sales.argentina@greif.com
Montevideo, Uruguay (+598) 23653227 / rossana.macias@greif.com
www.greif.com

como en los huéspedes, plantea un gran desafío para la microbiología médica e industrial del siglo XXI y es un proceso altamente complejo y desafiante por el hecho de que hasta la fecha no se han desarrollado métodos eficientes para eliminar los biofilms o prevenir su formación.

CAMPYLOBACTER JEJUNI

La supervivencia y persistencia de *Campylobacter jejuni* en plantas de procesamiento de alimentos, especialmente de aves de corral, representan factores de riesgo significativos que contribuyen a la propagación de este patógeno a través de la cadena agroalimentaria. En comparación con otros patógenos transmitidos por los alimentos, *C. jejuni* es más exigente en sus requisitos de crecimiento y es muy susceptible a diversos factores estresantes ambientales. Por ello se sugiere que la formación de biofilms desempeña un papel importante en la supervivencia de este microorganismo en el entorno de producción y procesamiento de alimentos. La simple adherencia en superficies y en biofilms existentes de otras especies microbianas contribuye a la supervivencia de *C. jejuni* en entornos relacionados con los alimentos. *Campylobacter jejuni* es integrante de la microbiota normal de los tractos gastrointestinales de varios mamíferos domésticos y salvajes y diferentes especies de aves con hábitos gregarios. De estos animales, las aves de corral se consideran generalmente como la fuente primaria de infección humana. La contaminación de las carcasas de las aves de corral ocurre desde el tracto gastrointestinal del animal durante la faena.



En comparación con muchos otros patógenos transmitidos por los alimentos (como *Escherichia coli* productor de toxina Shiga y *Salmonella enterica*), *C. jejuni* es más exigente en sus necesidades de crecimiento. Específicamente, requiere una atmósfera reducida de oxígeno (5% de oxígeno, 10% de dióxido de carbono y 85% de nitrógeno) para poder crecer. *C. jejuni* tampoco puede crecer a temperaturas inferiores a 30°C y es susceptible a diversos factores estresantes ambientales y de procesamiento, como el estrés osmótico, la temperatura elevada y el pH. En teoría, estas propiedades hacen que la supervivencia de *C. jejuni* fuera del huésped esté dificultada en entornos aeróbicos naturales o en la cadena agroalimentaria. Sin embargo, en la realidad, *C. jejuni* está muy extendido en el medio ambiente y puede aislarse fácilmente desde los alimentos, el agua y otras fuentes. No está claro cómo supera esas desventajas aparentes para sobrevivir en el medio ambiente y la cadena alimentaria y luego causar enfermedades. Los informes sobre la investigación de esta aparente paradoja han sugerido que la formación de biofilms puede desempeñar un papel importante en la supervivencia de *C. jejuni* en el medio ambiente.

Esto plantea la cuestión de si *C. jejuni* (como especie) forma biofilms como mecanismo de supervivencia o si simplemente se adhiere a las superficies (u a otros biofilms) de una manera más pasiva. Aunque la definición de biofilms no incluye células adherentes, que no crecen, o dañadas metabólicamente, que pueden adherirse a las superficies mediante procesos fisicoquímicos, estas células tendrían la potencialidad de formar biofilms posteriormente si las condiciones ambientales son adecuadas.

Como ya se mencionó, los biofilms pueden consistir en especies microbianas únicas o múltiples, pero en la naturaleza los biofilms de especies mixtas predominan en la mayoría de los ambientes. Estudios anteriores han demostrado que *C. jejuni* es un iniciador de biofilm pobre y que los biofilms de este patógeno se forman sólo bajo condiciones muy específicas de crecimiento. Dado que *C. jejuni* es susceptible a las condiciones prevalentes fuera de sus



avícolas pueden proporcionar un ambiente adecuado para la supervivencia y el crecimiento de *C. jejuni* en plantas procesadoras de aves.

En un biofilm, las células bacterianas están incrustadas en una matriz extracelular, muy cerca unas de otras, lo que facilita el intercambio genético y el intercambio de nutrientes, enzimas y metabolitos secundarios dentro de estas comunidades.

huéspedes, la posibilidad de que actúe como colonizador primario para la formación de biofilms en el medio ambiente o en las superficies de procesamiento de aves, es muy baja. Sin embargo, puede unirse y sobrevivir en biofilms de poblaciones microbianas mixtas integradas por diferentes bacterias como *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. faecalis*, *S. simulans* y *S. serovar Agona*. Es por ello por lo que se ha sugerido que estos microorganismos que se originan a partir de fuentes

de estas comunidades. Estas características del biofilm de especies mixtas pueden ser ventajosas para *C. jejuni*, que tiene un complemento genético limitado para la biosíntesis de metabolitos esenciales debido a su genoma relativamente pequeño. Dado que *C. jejuni* no puede utilizar muchos carbohidratos como fuentes de carbono o energía, puede depender de metabolitos secundarios producidos por otras bacterias del biofilm de especies mixtas.



NUTRALIA



VITAMINAS - MINERALES - CAROTENOS - PREMEZCLAS A MEDIDA

ANTIOXIDANTES - MIX DE TOCOFEROLES

NUTRALIA SRL - www.nutralia.net - info@nutralia.net - Tel: +54 342 4841204

 + 54 9 342 4057036

INOCUIDAD

Además, se sugiere que la presencia de genes para sistemas de transporte desempeña un papel esencial en la absorción de aminoácidos no sintetizados por *C. jejuni* pero producidos por otras bacterias o encontrados en el microambiente del biofilm de especies mixtas.

Es probable que las células de *C. jejuni* simplemente se adhieran a los alimentos, las superficies abióticas y los biofilms de otras especies de una manera relativamente pasiva. Ese agregado no debe considerarse como un paso inicial en la formación del biofilm, ya que el crecimiento posterior puede no ocurrir, pero aun así es probable que mejore su supervivencia, particularmente en el caso de los biofilms de especies múltiples que pueden reducir su exposición a estresores. Por lo general, y como vimos previamente, los biofilms consisten en microorganismos en cultivos mixtos en condiciones simbióticas, los cuales suelen ser más resistentes a los agentes químicos comúnmente utilizados para la limpieza y la desinfección de las plantas procesadoras, así como a otras condiciones adversas como la refrigeración, la acidez, la salinidad y los antibióticos. La matriz del biofilm es quien promueve la protección de éstos, inhibiendo el acceso de agentes biocidas, concentrando los nutrientes y previniendo la deshidratación.

EL DESAFÍO DE LOS BIOFILMS

Los biofilms formados por diferentes especies bacterianas, como las que se encuentran en las plantas frigoríficas aviares, representan un riesgo sustancial, ya que pueden protegerse entre sí de los agentes químicos aplicados durante los procedimientos de limpieza y desinfección. En cultivos mixtos con *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*, *Bacillus* sp. y *Enterococcus faecalis*, la supervivencia y persistencia de *Campylobacter* termotolerantes es bastante evidente y se pueden observar cambios estructurales y en su actividad metabólica. Ha sido descrito el comensalismo de *C. jejuni* con *Pseudomonas aeruginosa*, que promueve el aumento de la tolerancia a las concentraciones de oxígeno ambiental para *C. jejuni*, y el aumento de la supervivencia de *Campylobacter* en biofilms encontrados en tuberías de agua compuestos de diferentes especies de protozoos.

Prevenir el desarrollo y eliminar los biofilms existentes es un gran desafío porque se relaciona directamente con la seguridad de los alimentos producidos. Puede ser efectiva la adopción de estrategias para eliminar el uso de materiales con superficies más favorables para la formación de biofilms. En la prevención y en los casos de biofilms formados previamente, se pueden utilizar métodos físicos, químicos y biológicos, siendo más eficaz la combinación de los tres métodos. Desde hace unos años la nanotecnología ha contribuido aportando nanometales que afectan las actividades esenciales de *Campylobacter* termotolerantes y *Salmonella*.

Los frigoríficos de aves generan residuos ricos en proteínas y lípidos, que se depositan sobre las superficies de los equipos e instalaciones de las plantas y favorecen la formación de biofilms tanto de microorganismos alterantes como de estos patógenos productores de ETA. De esta manera, las bacterias terminan convirtiéndose en una fuente de contaminación y pueden transferirse a los alimentos o a sus envases, transformándose en una amenaza constante. La forma sésil encontrada en los biofilms de *Campylobacter* termotolerantes y *Salmonella* permite una mejor supervivencia en condiciones estresantes de temperatura, oxígeno y nutrientes en entornos abióticos y en diferentes matrices alimentarias, especialmente, en la carne de pollo, y en presencia de agentes antibacterianos. De esta manera, su diseminación y contaminación a través de la



cadena cárnica aviar se vuelve más fácil. Las razones que permiten la supervivencia son multifactoriales, pero incluyen especialmente la reducción de la actividad metabólica y la disminución de la acción adsorbente de la matriz polimérica extracelular, que reduce la cantidad de agente antimicrobiano y desinfectante que puede penetrar para interactuar con las células del biofilm, y los factores específicos expresados por las células en el biofilm, como las bombas de eflujo.

Como una alta proporción de los pollos llegan al frigorífico con patógenos como *Salmonella* y *Campylobacter*, aumenta las posibilidades de contaminación de los equipos durante el procesamiento. Los estudios de genotipado de *Campylobacter* muestran claramente la similitud entre las cepas presentes en el intestino de las aves y en las muestras del producto final, lo que indica una clara contaminación cruzada. La supervivencia de *Campylobacter* en la piel del pollo es otra forma de adaptación del microorganismo. Este agente es capaz de fijarse en las grietas profundas de la piel y las plumas de los folículos de las aves. Estos huecos proporcionan las condiciones ideales para que las bacterias se adhieran, colonicen, formen biofilms y permanezcan protegidas en la carcasa, incluso a bajas temperaturas.

MANEJO DE LOS BIOFILMS. LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN.

Los procedimientos de limpieza y sanitización dentro de los sistemas de producción avícola son de suma importancia y deben incluir el estricto cumplimiento de los protocolos de bioseguridad establecidos. Esto se aplica principalmente a entornos difíciles de descontaminación, tales como fábricas de piensos, entornos agrícolas y granjas. El diseño de las instalaciones y los equipos y la elección de los materiales y recubrimientos utilizados en la cadena cárnica aviar son extremadamente importantes para prevenir la formación de biofilms. Incluso adoptando los programas de limpieza y desinfección más efectivos, no es posible resolver los problemas causados por equipos defectuosos, que tienen esquinas, grietas, válvulas y juntas inaccesibles, los cuales son puntos vulnerables para la acumulación de biofilms. El uso de equipos bien diseñados junto con la adopción de POES permite la eliminación del material no deseado de las



Tecnología de medición para inspectores de alimentos

El trabajo de inspector de alimentos es muy exigente y, además de los conocimientos especializados necesarios, también se requiere la tecnología de medición correcta.

En Testo contamos con los instrumentos y el conocimiento para hacer de su trabajo algo más preciso y menos complejo.

www.testo.com/es-ar/sector-alimentario

Testo Argentina S.A.
Yerbal 5266 - 4° piso (C1407EBN) - Buenos Aires
Tel.: (011) 4683-5050 - Fax: (011) 4683-2020
info@testo.com.ar - www.testo.com.ar



superficies, incluidos microorganismos, materiales extraños y residuos de los productos de limpieza y desinfección.

Existen tecnologías para detectar biofilms y, de esa manera, controlar la colonización de superficies en las industrias frigoríficas e identificar las primeras etapas de su formación y desarrollo. Una vez que el biofilm ya se encuentra establecido, los procesos de limpieza mediante la acción mecánica deben acentuarse, porque la fricción actúa alterando la matriz, exponiendo capas más profundas y haciendo que los microorganismos sean cada vez más accesibles.

En general, los desinfectantes no penetran en la matriz del biofilm después de un procedimiento de limpieza ineficiente y llegan sólo a las capas más externas. Por lo tanto, no destruyen toda la comunidad microbiana alojada. La limpieza es el primer paso y es muy importante para mejorar el saneamiento de los equipos y las instalaciones. Durante ese proceso es clave eliminar eficazmente los desechos de los alimentos que pueden contener microorganismos y promover el crecimiento microbiano.

El uso de altas temperaturas ayuda a reducir la aplicación de fuerzas mecánicas, como la turbulencia en el agua de lavado. Los productos químicos comúnmente utilizados para la limpieza son los tensioactivos o los álcalis, que se utilizan para suspender y disolver los residuos de alimentos al reducir la ten-

sión superficial, emulsionar las grasas y desnaturar las proteínas propias de la industria frigorífica. Además de la acción mecánica, la adhesión microbiana sobre las superficies debe ser prevenida y controlada. En este sentido, las instalaciones, equipos y utensilios deben lavarse diariamente y desinfectarse con el uso de sustancias microbicidas previamente aprobadas por la legislación. Para ello, los POES deben ser ejecutados por los operarios de limpieza con la frecuencia y profundidad adecuada. Como los biofilms son fuentes constantes de contaminación de agentes alterantes y patógenos que tienen impactos económicos y de salud pública, la prevención debe incluirse en los objetivos de la calidad de los controles industriales. Entre las acciones requeridas en todas las estrategias se incluye el monitoreo frecuente y definir claramente las políticas internas para garantizar el cumplimiento de los POES.

La eliminación de los biofilms en los sistemas abiertos se realiza a través de los procedimientos de limpieza habituales de la siguiente manera: la suciedad gruesa debe eliminarse mediante métodos secos, por ejemplo, cepillando, raspando o aspirando y, si el proceso está húmedo, la suciedad visible se puede enjuagar con agua a baja presión. Si el equipo es difícil de limpiar, se puede lograr una eliminación efectiva de los biofilms de los sistemas abiertos desmantelando el equipo en la línea de proceso. La limpieza se lleva a cabo utilizando espuma o gel. Las espumas son efectivas cuando necesitamos prolon-



Tabla 5 - Agentes utilizados para combatir biofilms microbianos y sitio de acción

Compuesto	Clasificación	Mecanismo de acción
2-piridona bicíclica	Policidas	Bloqueo en la adhesión bacteriana
Lactoferrina, extracto de plantas, taninos	Quelantes del hierro	
Furanonas halogenadas y péptido inhibidor de ARN III (RIP)	Competencia por los sitios receptores	Inactivación de la comunicación (<i>quorum sensing</i>)
Proteinasa, tripsina, ADNsa, metaperiodato de sodio	Enzimas	Matriz de los biofilms maduros
Detergentes ácidos/alcalinos	Modificadores del pH	Matriz de los biofilms maduros
Zinc, plata, oro, titanio	Nanopartículas	Biomasa de los biofilms maduros
Clorhexidina, triclosán	Antisépticos	
AMP, terpinen-4-ol	Bioactivos	

Adaptado de Rossi et al. (2017).

gar el tiempo de contacto con la suciedad. Los detergentes que se utilizarán en la limpieza de sistemas abiertos están formulados para ser efectivos a temperatura ambiente. No se debe usar una temperatura demasiado alta en las áreas abiertas de procesamiento, ya que luego se forma niebla y los pocos microbios que sobreviven a la desinfección comenzarán a crecer en las superficies húmedas. Los tensioactivos, que disuelven las partículas adheridas y los microorganismos de las superficies en el agua, se agregan para aumentar el efecto de limpieza, que también se incrementa utilizando agua en volumen suficiente y a la temperatura y presión correctas. Los utensilios y equipos desmontados deben almacenarse posteriormente en mesas o repisas y no en el piso. La limpieza en áreas abiertas se realiza principalmente en combinación con una desinfección final, porque los microorganismos viables que quedan sobre las superficies y en las grietas deben ser eliminados para evitar que tomen contacto con los alimentos que serán producidos en el siguiente turno.

Además de la acción mecánica, se deben tomar otras medidas para prevenir y controlar la adhesión microbiana. En este sentido, las instalaciones, equipos y utensilios deben lavarse diariamente y desinfectarse con el uso de sustancias microbicidas previamente aprobadas por la legislación respectiva. La desinfección es el uso de productos para la eliminación de microorganismos, especialmente patógenos. El propósito de la desinfección es reducir la carga microbiana que queda en la superficie después de la limpieza y evitar su proliferación

antes de reiniciar la producción. Los desinfectantes deben ser efectivos, seguros y fáciles de manejar, debiendo eliminarse fácilmente de las superficies usando agua, sin dejar residuos en el producto final que puedan afectar al consumidor.

Los productos químicos utilizados en los procesos de desinfección pertenecen a los siguientes tipos: compuestos ácidos, biocidas, a base de aldehídos, cáusticos, cloro, peróxido de hidrógeno, yodo, isotiazolinonas, ozono, ácido peracético, fenoles, biguanidas y tensioactivos. Algunos ejemplos de agentes que pueden usarse para controlar y/o eliminar biofilms de *Salmonella* y *Campylobacter* pueden verse en la Tabla 5.

Las estrategias más utilizadas en la industria implican la eliminación de los biofilms ya instalados mediante la eliminación de la matriz y/o la biomasa bacteriana. Como primer paso se cita el uso de detergentes enzimáticos y compuestos que promueven el cambio repentino en el pH y la posterior licuefacción de la matriz. Otro punto importante para la eliminación de bacterias del biofilm maduro es la participación de características dependientes de la cepa, ya que existen factores intrínsecos moleculares que pueden evitar la efectividad de los agentes, dificultando su penetración, dependiendo de la composición de la matriz y del mecanismo de acción del agente aplicado.

Las policidas actúan inhibiendo la síntesis de adhesinas y fimbrias, esenciales en el proceso de fijación de las bacterias a las superficies, mientras que los agentes quelantes de hierro evitan la dispo-



bilidad de este elemento en el proceso inicial de adhesión, el cual es esencial para la formación del biofilm. Los sistemas que interfieren el quorum sensing implican el uso de compuestos que compiten por los sitios de unión de moléculas autoinductoras o por la degradación directa de estas moléculas. Los tensioactivos y biosurfactantes también son alternativas que pueden usarse para combatir la formación de biofilms. Las superficies tratadas con tensioactivos pueden tener un potencial superior al 90% en la prevención de la adhesión bacteriana, y los biosurfactantes como los rhamnolípidos y los ácidos grasos de cadena corta pueden promover la ruptura de los biofilms.

Las nanopartículas, así como los péptidos antimicrobianos (AMP), aparecen como una estrategia actual para la eliminación de la biomasa de los biofilms, ya que son estables a altas temperaturas y presiones, tienen potencial de inactivación, pueden

penetrar fácilmente en la matriz, tienen menos probabilidades de desarrollar resistencia, tienen un efecto mínimo en las células humanas y pueden usarse para extender la vida útil de los productos frescos y cárnicos.

También son útiles las combinaciones de tratamientos con diferentes tipos de acción. Por ejemplo, las ondas de ultrasonido se asociaron con un mejor rendimiento de las enzimas proteolíticas. Estos procesos se dirigen hacia la matriz del biofilm, causando la desagregación y la dispersión de la biomasa. Sin embargo, no son eficientes para la eliminación de estos microorganismos, que pueden adherirse nuevamente a la superficie y reiniciar un nuevo ciclo de formación de biopelículas. Para mejorar las técnicas de limpieza, la ultrasonificación puede usarse para limpiar eficientemente construcciones difíciles, como cintas transportadoras y toboganes. Además, la limpieza con hielo seco, los tratamientos con ozono y la irradiación UVC (200-280 nm) se pueden utilizar para mejorar la higiene en el procesamiento de alimentos.

La eficacia de los desinfectantes utilizados en el procesamiento y en productos para la higiene de manos se puede mejorar mediante el uso de productos con aceites esenciales. El crecimiento del biofilm en las superficies también se puede reducir cuando se utilizan nuevos nanomateriales en los que, por ejemplo, se ha incorporado plata o cobre. El problema principal con estos materiales es que deben estudiarse en forma adecuada para demostrar que son seguros en el procesamiento de alimentos.

SÍNTESIS Y CONCLUSIONES

Los actores de la cadena agroalimentaria deben ofrecer una amplia gama de productos seguros, saludables y nutritivos a los consumidores. La calidad de los productos está siendo sometida a una evaluación continua por parte del mercado y de los entes reguladores. La inocuidad alimentaria debe ser respetada por todos los eslabones de la cadena agroalimentaria, incluidos los agricultores y los productores de alimentos para animales. Las reglas de higiene, que han evolucionado con el tiempo, establecen que la

responsabilidad principal en la inocuidad es del productor de alimentos y que dicha inocuidad se debe garantizar de la granja a la mesa e implementar de acuerdo con los principios HACCP.

Los programas de limpieza y desinfección deben asegurar que todas las partes de las instalaciones estén debidamente limpias, e incluir la limpieza del equipo de limpieza. La eficacia de la limpieza y desinfección deberá vigilarse de manera constante y eficaz, documentando los procedimientos en el marco de los programas correspondientes. Los

POES son procedimientos operativos estandarizados que describen las tareas de saneamiento. Se aplican antes, durante y después de las operaciones de elaboración. Es muy importante en los POES que el Manual de Limpieza y Desinfección explique claramente qué limpiar, cómo hacerlo, cuándo hacerlo y lo que se requiere para hacerlo, así como los responsables.

Los POES contienen las descripciones de aquellas tareas específicas relacionadas con la limpieza y la sanitización que deben llevarse a cabo para cumplir el propósito en forma exitosa. Ese propósito consiste básicamente en reestablecer las superficies en las cuales se ha acumulado suciedad propia del procesamiento de los alimentos. Estos procedimientos se llevan a cabo mediante un enfoque sistemático y análisis cuidadoso de un trabajo específico de sanitización y se plantean de tal forma que los peligros que afectan a los alimentos se minimizan o eliminan para cumplir con un estándar de calidad fijado por la política de la empresa. La primera línea de defensa es la especial atención en el diseño higiénico del equipamiento, acompañado con un programa robusto de mantenimiento preventivo. Lo segundo es focalizarse en programas de limpieza bien diseñados. POES adecuados a cada operación.

Los biofilms se desarrollan típicamente en áreas difíciles de limpiar, tales como agujeros, aun los más minúsculos, incluso en poros de los materiales de los equipos. Se encuentran además en grietas y superficies dañadas o soldaduras, en todos aquellos lugares donde no pueden ser perturbados. El mayor desafío es acceder a ellos. Si los procesadores de alimentos pudieran encontrar y acceder a cada uno de los cm² de su planta y del equipamiento con los elementos físicos y químicos adecuados para eliminarlos, el crecimiento de biofilms sería muy poco probable. Los mayores problemas se ven en plantas que no tienen acceso a todos los puntos de sus equipamientos de proceso, que pueden tener poco tiempo para sanitización o que están en un

ambiente de procesamiento seco que no permite la limpieza húmeda. La industria tiene el desafío de mejorar el diseño de planta y el de los equipos de proceso, poniendo un mayor foco en la sanitización y dedicando tiempo y herramientas adecuadas, tanto físicas como químicas, para hacerlo. En este último aspecto, es un punto clave la selección del personal idóneo, adecuado para las tareas de sanitización, así como su capacitación constante.

En microbiología hay dos áreas de enorme estudio y actividad desarrollada en los últimos años, por un lado, el análisis de los genomas bacterianos, incluyendo el microbioma humano, y por el otro el proceso de formación y desarrollo de los biofilms. No hay duda de que la disponibilidad de la secuencia completa de numerosos genomas microbianos ha influido enormemente en diversos campos de la agricultura, la biología y la industria. También es un hecho que las bacterias se desarrollan formando comunidades de microorganismos (ecología molecular microbiana), lo cual ha modificado el concepto de las bacterias como seres unicelulares. Esto plantea el eventual desarrollo de una nueva disciplina dedicada a estudiar estas comunidades microbianas (biofilms) y los fenotipos diferenciales que aparecen en ellas, distintos con respecto de las bacterias individuales.

El avance en la genómica y proteómica ha permitido conocer los genes que se expresan de forma diferente cuando las bacterias se hallan formando biofilms. Esto, a su vez, abre la posibilidad de identificar estrategias de control con sustancias inhibidoras o supresoras del quorum sensing, las moléculas que facilitan la comunicación entre las bacterias de la comunidad respectiva. Por otro lado, propiciar los procedimientos de inhibición del desarrollo microbiano, profundizar la evaluación del riesgo microbiológico y la utilización de las herramientas tecnológicas de procesamiento, limpieza, sanitización y gestión de la calidad, entre otras, contribuirá a mejorar la seguridad y calidad de los alimentos y el control de los biofilms microbianos.

REFERENCIAS

Bremer, P. J., Seale, B., Flint, S., & Palmer, J. (2009). Biofilms in dairy processing. In, P. M. Fratamico, B. A. Annous, & N. W. Gunther (Eds.), Chap 15, Biofilms in the food and beverage industries (pp. 396-431). Cambridge, UK. Woodhead Publishing Limited.

De Vault, J.D. (2018). Environmental monitoring in the milling and baking industry. *Cereal Foods World*, Vol. 63, No. 1 Jan-Feb 2018.

Erickson, M. (2019). Microbiological issues associated with fruits, vegetables, nuts, and grains. In, *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, 5th Ed. M. Doyle, F. Diez-Gonzalez, and C. Hill. ASM Press.

Eyles, M.J., Moss, R. & Hocking, A.D. (1989). The microbiological status of Australian flour and the effects of milling procedures on the microflora of wheat and flour. *Food Aust.*, 41, 704-8.

Galié, S., García-Gutiérrez, C., Miguélez, E.M., Villar, C.J., & Lombó, F. (2018). Biofilms in the Food Industry: Health Aspects and Control Methods. *Front in Microbiol* Vol 9, Artic 898. www.frontiersin.org

Galli, L., Brusa, V., Rodríguez, R., Signorini, M., Oteiza, J.M. & Leotta, G.A. (2016). *Escherichia coli* in food products. In, *Escherichia coli in the Americas*, 2nd Ed., Chap 8, pag. 173-203. Editor, A. G. Torres. Ed. Springer, US. ISBN 978-3-319-45091-9, ISBN 978-3-319-45092-6 (eBook).

Gutiérrez, D., Rodríguez-Rubio, L., Martínez, B., Rodríguez, A., García, P. (2016). Bacteriophages as weapons against bacterial biofilms in the food industry. *Front in Microbiology*, 7, 825.

Holah J. & Lelieveld H.L.M. (2011). Hygienic design of food factories. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Chap 26, Effluent from the food industry.

Lelieveld H.L.M, Holah J.T. & Napper D. (2014). Hygiene in food processing. Principles and practice. 2nd Ed. Woodhead Publishing Lim., Chap3, Hygienic factory design for food processing.

Lelieveld H.L.M, Holah J.T. & Napper D. (2014). Hygiene in food processing. Principles and practice. 2nd Ed. Chap. Woodhead Publishing Lim., Cleaning of Low-Moisture Food Manufacturing Plants.

Los, A., Ziuzina, D., & Bourke, P. (2018). Current and Future Technologies for Microbiological Decontamination of Cereal Grains. *Jour Food Sc.* Vol 83, Iss 6. IFT.

Marriott, N.G., Schilling, M.W., & Gravani, R.B. (2018). Principles of Food Sanitation. Chap 19. Fruit and Vegetable Processing Plant Sanitation. Springer Internat Pub.

Milanov, D., Ljubojevic, D., Cabarkapa, I., Karabasil, N., & Velhner, M. (2017). Biofilm as risk factor for Salmonella contamination in various stages of poultry production. *Europ Poult Sci*, 81.

Pornpukdeewattana, S., Jindaprasert, A. & Massa, S. (2019). *Alicyclobacillus* spoilage and control - a review, *Crit Rev in Food Sci*, and Nut, DOI: 10.1080/10408398.2018.1516190

Rodríguez, R. (2006). Calidad Integral de Alimentos y Ecología Microbiana. *Anales de la Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria*. Tomo LX. Págs. 75-131. Disponible en <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/29129>

Rossi, D. A., Melo, R. T., Mendonça, E. P., & Monteiro, G. P. (2017). Biofilms of Salmonella and Campylobacter in the poultry industry. *Poultry Science InTech*, 93-113.

Shemesh, M., Pasvolsky, R., & Zakin, V. (2014). External pH Is a Cue for the Behavioral Switch That Determines Surface Motility and Biofilm Formation of *Alicyclobacillus acidoterrestris*. *Jour Food Protect*, Vol. 77, (8):1418-1423. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-13-425

Simões, M., Simões, L., & Vieira, M. (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 43, 573-583.

Teh, A. H. T., Lee, S. M., & Dykes, G. A. (2014). Does *Campylobacter jejuni* form biofilms in food-related environments? *Appl. Environ. Microbiol.*, 80(17), 5154-5160.

Vogeleer, P., Tremblay, Y.D.N., Jubelin, G., Jacques, & M., Harel, J. (2015). Biofilm-Forming Abilities of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolates Associated with Human Infections. *App and Environ Microbiol* 82(5):AEM.02983-15 DOI: 10.1128/AEM.02983-15.



Revista on line

La Alimentación Latinoamericana

Edición 349





 /itthep
 /publitec.com
www.publitec.com