

## DetECCIÓN de *Listeria monocytogenes* en distintos productos alimenticios y en muestras ambientales de una amplia cadena de supermercados de la ciudad de Bahía Blanca (Argentina)

M.A. MARZOCCA, P.L. MARUCCI, M.G. SICA, E.E. ALVAREZ\*

Laboratorio Control de Calidad. Cooperativa Obrera Limitada. Santa Fe 391 (8000) Bahía Blanca. Pcia. Buenos Aires. Argentina.

\*Correspondencia. E-mail: laboratoriocol@infovia.com.ar

### RESUMEN

En el período comprendido entre enero de 2002 y julio de 2003 se realizó este trabajo que consistió en la detección de *Listeria monocytogenes* en diferentes alimentos: 90 muestras de fiambres cocidos, fraccionados y envasados con diferentes metodologías y 132 muestras de queso de pasta blanda. Estos productos fueron analizados utilizando el criterio presencia-ausencia en 25 g de alimento. *L. monocytogenes* no se halló ni en los fiambres feteados en las ventas personalizadas ni en las muestras de queso analizadas. Por el contrario, se determinó su presencia en el 10% de los fiambres feteados envasados al vacío y en el 5% de los fiambres trozados envasados al vacío. Estos resultados nos llevaron a incluir la investigación de la presencia de este patógeno en diferentes muestras medioambientales. Para ello se hisoparon 115 puntos incluyendo las líneas de procesamiento, materias primas, utensilios, heladeras. *L. monocytogenes* se halló en el 13,2% de las muestras analizadas: 5% correspondieron a la sala de fraccionamiento de fiambres y lácteos, 6,7% al frigorífico y 1,5% a los sitios de venta personalizada. Estos resultados indicaron la posible existencia de sitios problemáticos donde el microorganismo tendría probabilidad de formar reservorios, por lo que se extremaron las medidas rutinarias de higiene y desinfección.

**Palabras clave:** *Listeria monocytogenes*, alimentos, medioambiente

### SUMMARY

***Listeria monocytogenes* detection in different food products and environmental samples of supermarkets of Bahía Blanca city (Argentine).** This work on *Listeria monocytogenes* detection in different foods was carried out between January 2002 and July 2003. Ninety cold-served cooked meats, sliced and packaged by different methods and 132 pieces of soft cheeses were studied. These products were analyzed using the presence/absence in 25 g criterion. *L. monocytogenes* was not found either in foods sliced over the counter or in controlled cheeses, but it was found in 10% of sliced cold-served foods and 5% of cut and cold-served meats vacuum packaged. These results led us to investigate the presence of these pathogen bacteria in different environmental samples. A hundred and fifteen points were swabbed including processing lines, raw materials, tools, and refrigerators. *L. monocytogenes* was found in 13.2% of the analyzed samples: 5% in packaging sector, 6.7% in meat processing lines and 1.5% in personalized sales. These results showed the presence of sites where the microorganism may reside and create reservoirs, so that routine measures of hygiene and disinfection were increased.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, foods, environment

La listeriosis es una enfermedad seria causada por el consumo de alimentos contaminados con *Listeria monocytogenes*, que afecta principalmente a las mujeres embarazadas, recién nacidos y adultos con defectos en su sistema inmunológico.

Dicho microorganismo se encuentra en una gran variedad de alimentos tanto frescos como procesados, de origen vegetal o animal como hortalizas, leche, quesos, carne de vaca, cerdo, aves, embutidos ahumados y fermentados, mariscos crudos, pescado ahumado.

Los datos obtenidos en los últimos 10 años, con respecto a los orígenes de los brotes de listeriosis, indican que algunos alimentos son más peligrosos que otros, considerándose de alto riesgo a los alimentos listos para consumir y conservados por un período de tiempo pro-

longado a temperaturas de refrigeración y a los que poseen una población elevada de *L. monocytogenes* (mayor a 100 UFC/g o ml) (4).

El agente etiológico de la listeriosis difiere en muchos aspectos de los demás patógenos transmitidos por alimentos: es omnipresente, resiste a condiciones ambientales adversas como el bajo pH y la elevada concentración de NaCl y es psicrótrofo.

*L. monocytogenes* ingresa en las plantas industriales por medio de la tierra existente en los zapatos y en la vestimenta de los obreros, en el equipo de transporte de los alimentos crudos de origen animal y posiblemente por medio de portadores humanos sanos. Una vez instalada allí, es capaz de adherirse a varios tipos de superficie (que incluyen el acero inoxidable, el vidrio, el cau-

cho) y han sido encontradas biopelículas en la carne y en los ambientes de tratamiento de los distintos productos alimenticios. Sobrevive en los dedos de los operarios después del lavado de las manos y en los aerosoles y es capaz de crecer adecuadamente a las temperaturas de refrigeración durante largos períodos de tiempo aún bajo condiciones muy adversas (3, 6).

El objetivo de nuestro trabajo fue establecer la presencia de *L. monocytogenes* en muestras de fiambres cocidos y quesos de pasta blanda que se expenden en nuestra cadena de supermercados y evaluar los posibles puntos de contaminación en muestras del medio ambiente correspondientes a la sala de fraccionamiento de fiambres y lácteos, al frigorífico y a las ventas personalizadas, todos pertenecientes a nuestra empresa. El estudio se llevó a cabo entre los meses de enero de 2002 a julio de 2003.

Para ello se analizaron: a) 90 muestras de fiambres cocidos distribuidos de la siguiente manera: 30 muestras feteadas y envasadas al vacío (FFEV) en la sala de fraccionamiento de fiambres y lácteos, 20 muestras trozadas y envasadas al vacío (FTEV) en el frigorífico y 40 muestras feteadas en los sectores de ventas personalizadas (FFVP); b) 132 muestras de quesos de pasta blanda (cuya humedad oscila entre 45-55%) de diferentes marcas comerciales: 74 trozados y envasados en la sala de fraccionamiento de fiambres y lácteos y 58 trozados en las ventas personalizadas y c) 115 muestras de medio ambiente (pisos, feteadoras, heladeras, mesadas, utensilios y materias primas): 20 muestras provenientes de la sala de fraccionamiento de fiambres y lácteos, 30 muestras del frigorífico y 65 muestras de los sectores destinados a las ventas personalizadas.

La metodología utilizada para el análisis de los fiambres cocidos se basó en el criterio presencia-ausencia en 25 g según USDA/FSIS (United States Department of Agriculture/Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science) (10).

Se realizó un pre-enriquecimiento en 225 ml de caldo UVM I (University of Vermont Medium. Oxoid CM863) suplementado con ácido nalidíxico y acriflavina (Oxoid SR142E). Se homogeneizó durante 2 minutos y se incubó a 30 °C durante 24 h. Se transfirió 1 ml del caldo del pre-enriquecimiento a 10 ml de caldo Fraser (Oxoid CM895) con ácido nalidíxico, acriflavina y citrato férrico amónico (Oxoid SR156E), se incubó a 30 °C durante 24-48 h. Se efectuó el aislamiento en agar Oxford modificado (Oxoid CM856) con el agregado de *Listeria* Suplemento Selectivo (Oxoid SR140E) constituido por cicloheximida, sulfato de colistina, acriflavina, cefotetan y fosfomicina, incubándose a 30 °C durante 24-48 h.

Las colonias sospechosas fueron repicadas en agar nutritivo, previa coloración de Gram, para su posterior identificación. Las características fenotípicas fueron evaluadas por medio de las pruebas de movilidad a 30 °C, actividad de la catalasa, prueba de la esculina en medio

con bilis, prueba de CAMP frente a una cepa patrón de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y se completó la identificación con el test API *Listeria* 10300 (bioMérieux).

En el caso de las muestras de queso de pasta blanda se utilizó la Norma FIL (Federación Internacional de Lechería) 143:1990.

Según esta normativa se realizó un enriquecimiento de 25 g de muestra en 225 ml de caldo base *Listeria* para enriquecimiento (Oxoid CM862) suplementado con ácido nalidíxico, cicloheximida y clorhidrato de acriflavina (Oxoid SR141E). Se homogeneizó durante 2 minutos y se incubó a 30 °C durante 48 h. Se realizó un aislamiento en agar Oxford modificado, incubándose a 30 °C durante 24-48 h. Las colonias sospechosas tuvieron el mismo tratamiento que en el caso de las muestras de productos cárnicos.

Para las muestras de medio ambiente se hisopó una superficie de 5 cm x 5 cm con doble hisopo y se colocaron en un tubo conteniendo 10 ml de caldo UVM I, utilizando la misma metodología que para el análisis de los fiambres cocidos.

En todos los casos se trabajó en paralelo con una cepa patrón de *L. monocytogenes* ATCC 7644 (bioMérieux).

Como se observa en la Tabla 1, *L. monocytogenes* se aisló en el 10% de los FFEV y en el 5% de los FTEV. En las muestras correspondientes a los FFVP no se la encontró, pero sí se halló *L. innocua* en el 7,5% de las mismas.

En una muestra de los FFEV (3,3%) se halló *L. welshimeri*.

Los resultados obtenidos en los FFEV y FTEV coinciden con los reportados en la literatura de referencia (2, 11). Como consecuencia de la aparición de *L. monocytogenes* en los FFEV y considerando que estos alimentos son productos listos para el consumo, se decidió realizar hisopados medioambientales con el fin de determinar la fuente de contaminación. En la Tabla 2 se detallan los resultados obtenidos. *L. monocytogenes* se aisló en el 5,0% de los hisopados de la sala de fraccionamiento de fiambres y lácteos, en el 6,7% de los correspondientes al frigorífico y en el 1,5% de los sitios de venta personalizada.

**Tabla 1.** Porcentaje de muestras contaminadas con diferentes especies de listerias

Tipo de alimento*	Número de muestras	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. welshimeri</i>
FFEV	30	10,0	-	3,3
FTEV	20	5,0	-	-
FFVP	40	-	7,5	-

\*FFEV: Fiambres y envasados al vacío; FTEV: Fiambre trozado y envasado al vacío; FFVP: Fiambre feteado en sectores de venta personalizada

**Tabla 2.** Presencia de *Listeria monocytogenes* en muestras medioambientales

Sitio	Número de muestras	Porcentaje de muestras positivas
Sala de Fraccionamiento de Fiambres y Lácteos	20	5,0
Frigorífico	30	6,7
Ventas Personalizadas	65	1,5

Este microorganismo se detectó en la línea de fraccionamiento y envasado automático de la sala de fraccionamiento de fiambres y lácteos. En las muestras medioambientales correspondientes al frigorífico se la halló en una balanza y en el cuero de un cerdo y en los sectores de venta personalizada se la encontró en un paño multiuso absorbente utilizado para la limpieza de cuchillos y superficies. Estos resultados obligaron a reforzar los métodos de sanitización utilizados de rutina por nuestra empresa y tras la aplicación de las medidas correctivas pertinentes no se aisló este patógeno en investigaciones realizadas posteriormente. Cabe aclarar que el aislamiento de *L. monocytogenes* de muestras medioambientales es muy difícil, por lo que probablemente los datos obtenidos en este grupo de muestras analizadas están subestimados (5).

En el caso de los quesos de pasta blanda tanto trozados y envasados en la sala de fraccionamiento de fiambres y lácteos como en los sitios de venta personalizada no se aisló *L. monocytogenes* y en dos muestras de este último grupo (1,2%) se detectó *L. innocua*. Estos datos difieren de los reportados en algunos trabajos consultados (2, 7, 11).

Los productos analizados en nuestro trabajo son almacenados en refrigeración, poseen óptimas condiciones físico-químicas (aw y pH) y no contienen microorganismos competitivos lo cual permite que este patógeno psicrótrofo pueda crecer en ellos hasta alcanzar niveles elevados. Debido a esto y en coincidencia con algunos autores, en nuestra empresa se aplica un criterio microbiológico estricto: tolerancia cero en 25 g (11,8).

Los criterios microbiológicos de aceptación del producto se deben establecer en base a los siguientes parámetros: Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y/o tratamiento térmico anterior al consumo, capacidad del patógeno de crecer en el alimento, condiciones de almacenamiento y vida media del producto (11).

El mayor desafío para su control en la industria alimentaria es prevenir el establecimiento de este micro-

organismo en nichos específicos para los que los planes de limpieza y desinfección son inespecíficos y si las condiciones son favorables, *L. monocytogenes* puede formar biofilms sobre las distintas superficies dificultando así su eliminación. Una limpieza y sanitización vigorosa podrían eliminarla pero dada su naturaleza ubicua pueden ocurrir contaminaciones esporádicas (5,1).

Sumado a lo dicho, la prevención de la listeriosis también puede lograrse con una adecuada educación de los consumidores en la correcta manipulación de los alimentos: evitando las contaminaciones cruzadas, respetando la cocción de los alimentos a temperaturas apropiadas, efectuando un minucioso lavado de manos y utensilios, refrigerando los alimentos perecederos y, si existe riesgo de contraer listeriosis, recalentando embutidos y fiambres (9).

## BIBLIOGRAFÍA

1. Beresford MR, Andrew PW, Shama G (2001) *Listeria monocytogenes* adheres to many materials found in food processing environments. *J. Appl. Microbiol.* 90: 1000-1005.
2. Cordano AM, Rocourt J (2001) Occurrence of *Listeria monocytogenes* in food in Chile. *Int. J. Food Microbiol.* 70: 175-178.
3. Cox LJ, Kleiss J, Cordier JL, Cordellana C, Konkel P, Pedrazzini C, Benmer R, Siebagna A (1989) *Listeria* spp. in food processing, non food and domestic environments. *Food Microbiol.* 6: 49-61.
4. Doyle, Beuchat, Montville (2001) *Listeria monocytogenes*. En: Microbiología de los alimentos. Fundamentos y fronteras, edición de la lengua española. Editorial Acribia S A, Zaragoza, España, p. 355-370.
5. Gudbjörnsdóttir B, Suihko M-L, Gustavsson P, Thorkelsson G, Salo S, Sjöberg A.-M, Niclasen O, Bredholt S (2004) The incidence of *Listeria monocytogenes* in meat, poultry and seafood plants in the Nordic countries. *Food Microbiol.* 21: 217-225.
6. Jeong DK, Frank JF (1994) Growth of *Listeria monocytogenes* at 10 °C in biofilms with microorganisms isolated from meat and dairy processing environments. *J. Food Prot.* 53: 224-227.
7. Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P, Hogg T, Gibbs PA (2004) Incidence of *Listeria monocytogenes* in different food products commercialized in Portugal. *Food Microbiol.* 21: 213-216.
8. Nørrung B, Andersen JK, Schlundt J (1999) Incidence and control of *Listeria monocytogenes* in food in Denmark. *Int. J. Food Microbiol.* 53: 195-203.
9. Rados C (2004) Preventing *Listeria* contamination in foods. *FDA Consumer.* January-February: 10 -11.
10. United States Department of Agriculture. Food Safety and Inspection Service, Office of Public Health and Science (2002) Isolation and Identification of *Listeria monocytogenes* from Red Meat, Poultry, Egg and Environmental Samples. Chapter 8. Revision 2.
11. Vitas AI, Aguado V, Garcia-Jalon I (2004) Occurrence of *Listeria monocytogenes* in fresh and processed foods in Navarra (Spain). *Int. J. Food Microbiol.* 90: 349-356.