

LISTERIA MONOCYTOGENES EN COMIDAS PREPARADAS

Montserrat Vila Brugalla. Agencia de Salud Pública de Barcelona
mvila.brugalla@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Tradicionalmente, *Listeria monocytogenes* no era considerado como un importante patógeno transmitido a través de los alimentos y, en consecuencia, no había recibido mucha atención por parte de la industria alimentaria. Los índices de listeriosis en la población humana siempre habían estado enormemente ensombrecidos por otras enfermedades transmitidas por los alimentos como la salmonelosis o la campilobacteriosis, y la confirmación de brotes era poco frecuente. Sin embargo, los brotes de listeriosis asociados al consumo de alimentos ocurridos al principios de 1980 demostraron la grave naturaleza de la enfermedad, que excepcionalmente cursaba con altos índices de mortalidad, en particular sobre los miembros más vulnerables de la población. Esto generó un temor público generalizado hacia el patógeno y tuvo como resultado un intenso programa de las autoridades de salud pública y de la industria alimentaria para controlar el microorganismo y la enfermedad. **Sin embargo, dadas las características del organismo, no es realista que todos los alimentos se hallen libres de *Listeria*.**

CARACTERÍSTICAS DEL MICROORGANISMO

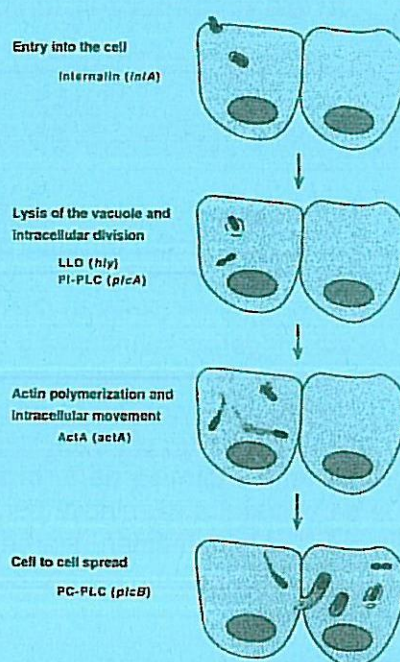
El género bacteriano *Listeria* comprende actualmente 10 especies, pero los casos humanos de listeriosis son causados casi exclusivamente por las especies de *L. monocytogenes*. Más del 95% de las cepas aisladas en humanos son serovar 4b, 1/2 y 1/2b. No hay diferencias geográficas en la distribución de cepas y tampoco existe relación entre el origen, características fenotípicas y moleculares de las cepas y su virulencia. Las cepas responsables de brotes corresponden a un pequeño número de clones.

Las distintas especies de *Listeria* son ubicuas, es decir, se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se pueden aislar de la tierra, la vegetación, las aguas residuales, las aguas superficiales y del tubo digestivo de numerosas especies de mamíferos y pájaros, de algunos peces y del marisco. En el hombre entre un 1% y un 10% son portadores intestinales asintomáticos de este microorganismo. Se encuentra también en ambientes de producción y procesamiento de alimentos donde se puede establecer en forma de biopelículas y persistir durante períodos prolongados de tiempo.

L. monocytogenes en particular es una bacteria Gram positiva de forma bacilar, anaerobia facultativa, psicotrofa y mobil. Una característica lo diferencia entre los patógenos transmitidos por los alimentos. Mientras otros patógenos excretan toxinas o se multiplican en la sangre, *L. monocytogenes* entra en las células del huésped, se multiplica en su interior, y pasa directamente a las células cercanas. La transmisión de célula a célula reduce la exposición de la bacteria a los antibióticos y anticuerpos circulantes. Esta capacidad de penetrar en las membranas celulares permite a *L. monocytogenes* alcanzar el cerebro y la placenta

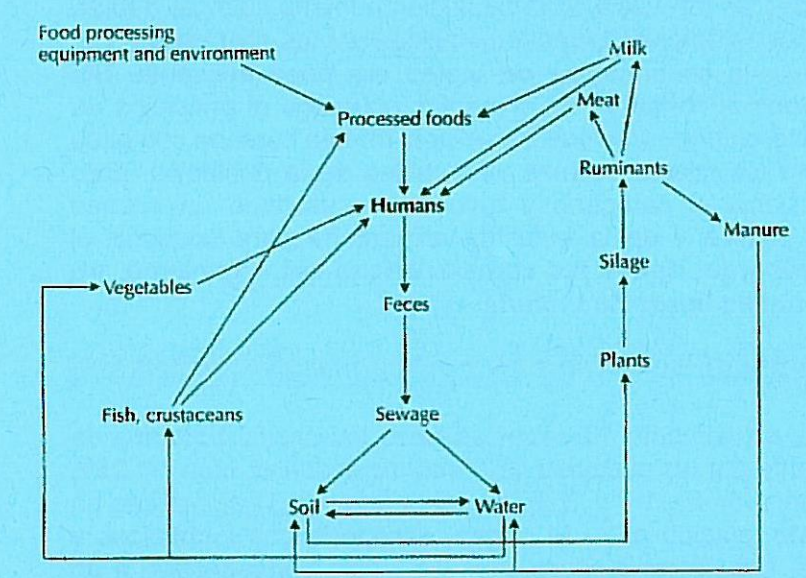
La principal vía de transmisión a los seres humanos es a través del consumo de alimentos contaminados. En general, la presencia de bajos niveles de *L. monocytogenes* en alimentos no es un evento infrecuente. La presencia de *L. monocytogenes* en el entorno de la granja, o en la captura de peces silvestres o de acuicultura, zonas de cultivo puede representar una fuente

Figura 1. Transmisión de célula a célula de *L. monocytogenes* (Montville T.J., Matthews K.R., (2008))



primaria para la introducción del patógeno en la cadena alimentaria humana. La contaminación suele originarse en entornos post- procesamiento, pero los alimentos crudos contaminados (pescado crudo, carne cruda o leche cruda) puede representar un vehículo para la introducción de *L. monocytogenes* en las plantas de procesamiento de alimentos.

Figura 2. Rutas potenciales de transmisión de *L. monocytogenes* (Montville T.J., Matthews K.R., (2008)



Las comidas preparadas listas para el consumo (*RTE o Ready to Eat*) elaboradas con o sin etapa de tratamiento térmico y con un tiempo de almacenamiento prolongado en condiciones de refrigeración pueden ser alimentos de alto riesgo en lo que respecta *L. monocytogenes* por contaminación durante el procesamiento o la posterior manipulación

FACTORES QUE AFECTAN AL CRECIMIENTO DE *L. MONOCYTOGENES*

Tabla 1. Cuadro resumen de los factores que afectan al crecimiento de *L. monocytogenes*

	Supervivencia	Crecimiento			Observaciones
		Mínimo	Óptimo	Máximo	
T (°C)	(1)	-0,4	30 - 37	45	(2), (3)
pH	≤ 4,3	4,39		9,40	(4)
a _w	≥ 0,83	0,92	≥ 0,97		(5)
% Na Cl	≥ 12			10	(6)

- (1) La congelación no reduce significativamente el tamaño de la población bacteriana . La supervivencia y lesión durante el almacenamiento congelado dependen de los alimentos y la velocidad de congelación
- (2) La velocidad de crecimiento decrece a medida que la temperatura disminuye.
- (3) *L. monocytogenes* se inactiva a temperaturas de > 50°C.
- (4) Los ácidos orgánicos tales como acético, cítrico, y láctico al 0,1% pueden inhibir el crecimiento de *L. monocytogenes*. La actividad anti *Listeria* de estos ácidos está relacionada con su grado de disociación: a un pH equivalente, cítrico y láctico son menos efectivos que el ácido acético.
- (5) La resistencia térmica de *L. monocytogenes* aumenta a medida que la a_w del alimento en el que se encuentra disminuye por efecto del calor. Este es un problema para los fabricantes de alimentos que combinan una baja a_w, y los tratamientos de calor para mantener la seguridad de los alimentos como las carnes curadas.

- (6) Las bajas temperaturas aumentan la supervivencia en ambientes de alta salinidad . Por lo tanto , embutidos (como salchichas, mortadela y jamón) son buenos entornos de crecimiento para *Listeria*.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

a) Métodos de detección:

- UNE-EN ISO 11290-1:1997/A1:2005. Microbiología de los alimentos para consumo humano y para animales. Método horizontal para la detección y el recuento de *Listeria monocytogenes*. Parte 1: Método de detección. Modificación 1: Modificación del medio de aislamiento y de la prueba de la hemólisis e inclusión de los datos de precisión (ISO 11290-1:1996/AM1:2004)
- Método ELFA (VIDAS, BioMérieux) El sistema VIDAS combina la inmunofluorescencia enzimática con una lectura final por fluorescencia.

b) Métodos de recuento:

- UNE-EN ISO 11290-2:2000/A1:2005. Microbiología de los alimentos para consumo humano y para animales. Método horizontal para la detección y recuento de *Listeria monocytogenes*. Parte 2: Método de recuento. Modificación 1: Modificación del medio de recuento (ISO 11290-2:1998/AM1:2004)

c) Métodos de identificación:

- La reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Algunas veces se encuentran resultados contradictorios: muestras con recuento positivo tienen resultados negativos en las pruebas de detección, cuando éstas deberían ser más sensibles. Estos resultados podrían deberse a fenómenos de competición entre *L. monocytogenes* (presente en números bajos) y otras especies de *Listeria*. (típicamente *L. innocua*, presente en niveles iguales o superiores) durante las etapas de enriquecimiento.

CARACTERÍSTICAS DE LA LISTERIOSIS

L. monocytogenes y la listeriosis como enfermedad fue reconocida por primera vez en animales de laboratorio en Cambridge en 1924. Más tarde se hizo evidente que la enfermedad también afecta a los seres humanos, y el aumento durante la década de 1980 en el número de casos humanos en varios países, junto con evidencia de transmisión por los alimentos ha generado mucho interés en esta enfermedad.

La listeriosis se transmite a través de tres vías principales:

- Listeriosis zoonótica.** Enfermedad laboral de granjeros y veterinarios provocada por contacto con animales infectados. Con 1 o 2 días de incubación, de carácter benigno que remite sin tratamiento, en la mayor parte de los casos se trata de una infección dérmica localizada.
- Listeriosis neonatal,** por transmisión de la madre al feto en el útero o durante el paso por el conducto del parto infectado. También, aunque no es frecuente, en la literatura se han descrito brotes de infección nosocomial por contaminación cruzada. Tiene un periodo de incubación corto (1-2 días) y puede ser extremadamente grave, resultando en meningitis y muerte.
- Listeriosis por consumo de alimentos contaminados con *L. monocytogenes*.** En este caso, podemos diferenciar entre:
 - **Listeriosis invasiva,** por consumo de alimentos con recuentos superiores a 100 ufc/g. La dosis infectiva no se puede determinar con exactitud, ya que depende del estado inmunológico previo a la infección, la virulencia de la cepa o la matriz alimentaria en la que se encuentre. Si bien la población sin factores de riesgo puede tolerar este recuento en los alimentos que ingiere sin presentar signos de enfermedad, en mujeres embarazadas provoca abortos y muerte fetal (con enfermedad gripal leve o asintomática para la madre). En población inmunocomprometida, como personas de edad avanzada, personas con

terapia inmunosupresora o infectadas con el virus de inmunodeficiencia humana, cursa con infecciones del sistema nervioso central (meningitis) y septicemia. En este caso, la tasa de letalidad oscila entre el 10% y el 30%.Tiene un periodo de incubación que puede variar de 1 día a varios meses.

- Gastroenteritis.** Aparece en población sana sin factores de riesgo por consumo de alimentos con recuentos de entre 10⁵ y 10⁹ ufc/g. El tiempo de incubación puede variar entre 18 y 72 horas, y cursa con fiebre, vómitos y diarrea que remiten sin complicaciones.

Aunque los brotes de listeriosis invasiva atraen la más la atención, se cree que la mayoría de los casos son esporádicos. Aun así, puede que algunos casos esporádicos sean brotes de origen común no reconocidos. La amplitud del periodo de incubación dificulta la investigación epidemiológica: es difícil conseguir historias alimentos precisos, examinar los alimentos sospechosos y relacionar casos ocurridos en lugares alejados con un mismo origen.

Aunque la exposición a *L. monocytogenes* es frecuente, la listeriosis no lo es. Esto puede ser debido a la alta resistencia humana o a la baja patogenicidad de la mayoría de las cepas. El riesgo de la enfermedad clínica en los portadores es desconocida.

EPIDEMIOLOGÍA

Brotes de listeriosis en comida preparada

La listeriosis transmitida por los alimentos se documentó por primera vez en 1981 durante un brote canadiense en Nueva Escocia. Un estudio de caso-control y caracterización de cepas demostraron que la comida era la fuente y que el alimento implicado era una ensalada de col. Se estimó que el brote tuvo como resultado 41 casos de listeriosis con 18 muertes: 2 adultos y 16 fetos o neonatos, a lo largo de un período de 6 meses. La col fertilizada con heces de oveja que habían sufrido listeriosis fue la fue la causante del brote. La col cosechada se almacenó durante el invierno y la primavera en una nave sin calefacción. Dado el carácter psicotrofo de *L. monocytogenes*, el almacenamiento en frío proporcionó un largo periodo de crecimiento a la bacteria.

Los brotes sucesivos fueron rápidamente vinculados a los quesos, carnes frías leche, nuggets de pollo y pescado.

Tabla 2. Ejemplos de brotes de listeriosis causados por comida lista para el consumo

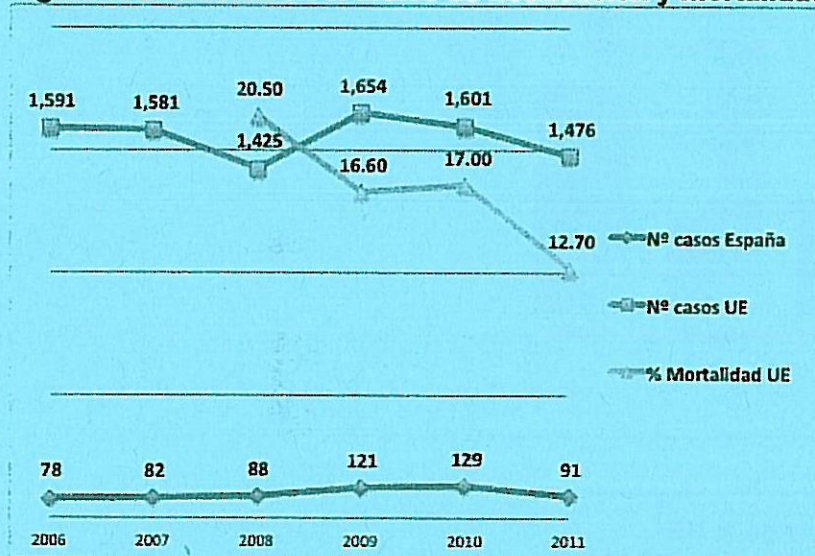
Año	Pais	Alimento	Nº casos	Nº fallecimientos	Duración
1981	Canadá (Nueva	Ensalada de col	41	18	6 meses
1985	EEUU (California)	Queso tipo mejicano	142	47	8 meses
1983 - 1987	Suiza	Queso tierno	122	34	4 años
1987 - 1989	Reino Unido	Paté	300	-	2 años
1992	Francia	Lengua de cerdo en gelatina	279	85	9 meses
2000	EEUU (10 estados)	Fiambre de pavo	29	7	6 meses
2011	EEUU (28 estados)	Melón	147	34	2 meses

Es importante destacar que, en muchos casos, se implica a los alimentos en ausencia de evidencias microbiológicas inequívocas, en base a encuestas sobre los hábitos alimentarios de los individuos afectados. Las evidencias más concluyentes que implican a un alimento son normalmente las derivadas de muestras de alimentos envasados sin abrir o de alimento obtenido del lugar de elaboración. En estos casos debe probarse que la cepa aislada es idéntica a la obtenida de una muestra de líquido cefalorraquídeo o sangre, o a partir de un hisopado vaginal o nasofaríngeo de los afectados.

Datos epidemiológicos de la listeriosis humana en la Unión Europea (UE)

- Durante el año 2011, se notificaron 1.476 casos confirmados de listeriosis humana en la UE, lo que supone una disminución del 7,9% respecto al año anterior. Sin embargo, no existe una tendencia estadísticamente significativa en la notificación de la enfermedad durante los años 2008 - 2011 a diferencia del incremento observado durante el periodo 2002 – 2006.
- De todas las enfermedades zoonóticas y de transmisión alimentaria de la UE del 2011, la listeriosis es la de mayor gravedad, con el 93,6% de los casos hospitalizados y 134 casos mortales, siendo la tasa de mortalidad del 12,7%.
- España tiene una de las tasas de notificación (nº casos por cada 100.00 habitantes) más altas dentro de la UE. Su valor es de 0,79 frente a los 0,32 en promedio de la UE.
- La distribución por edades de la enfermedad documentada en 2010 fue similar a la de los años anteriores. La tasa de notificación de los mayores de 65 años fue la más alta, con un valor de 1,2 casos por 100.000 habitantes. De entre todos los casos del 2010, el 60,3% corresponde a esta franja de edad.

Figura 3. Evolución en el índice de notificación y mortalidad por listeriosis



Datos epidemiológicos de la listeriosis humana en España

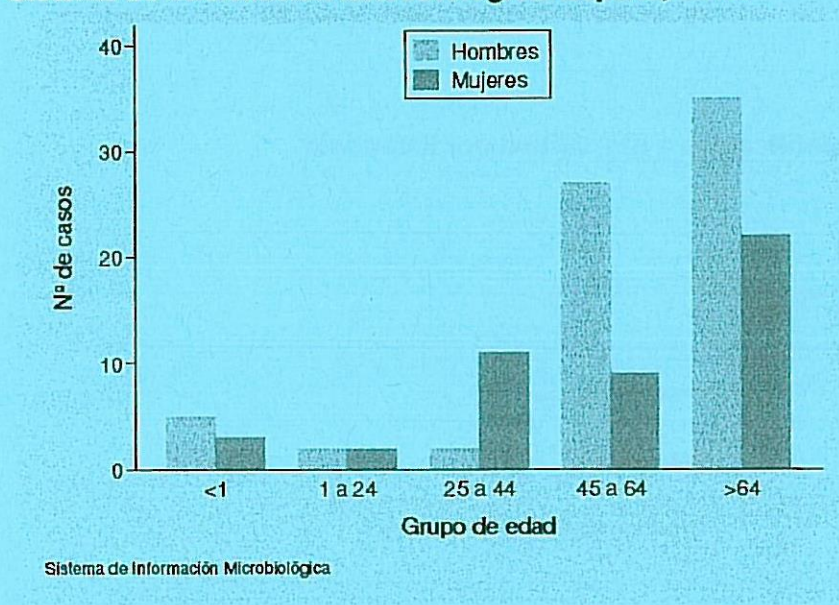
De los datos obtenidos de los Servicios de Vigilancia epidemiológica de España, destaca la desproporción en el número de casos notificados entre comunidades autónomas, y la cuantificación de la distribución de la enfermedad por grupo de edad, que encaja con la tendencia europea.

Tabla 3 . Distribución por Comunidad Autónoma de los casos por *L. monocytogenes*. Sistema de Información Microbiológica. España, 2011 y 2012.

Comunidad Autónoma	Nº casos 2011	Nº casos 2012*
Andalucía	11	-
Aragón	6	4
Asturias	5	12
Castilla la Mancha	1	1
Castilla y León	5	3
Cataluña	52	66
Extremadura	-	3
Navarra	1	5
País Vasco	32	16
La Rioja	1	9
TOTAL	114	119

* Los datos del 2012 son provisionales

Figura 4 . Distribución por grupo de edad y sexo de los casos por *L. monocytogenes*. Sistema de Información Microbiológica. España, 2012.



Listeria en comidas preparadas. Datos de la UE

La Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha publicado recientemente un estudio realizado en la UE para estimar la prevalencia de *L. monocytogenes* en determinados alimentos listos para el consumo a nivel del comercio minorista. El muestreo incluye un total de 13.088 muestras recogidas entre el 2010 y el 2012 repartidas de la siguiente manera: 3053 de productos a base de pescado envasado no congelado (ahumado o marinado), 3530 de productos cárnicos tratados por el calor y 3452 de queso tierno o semi tierno (se excluyó el queso fresco y el queso curado). Estas tres categorías fueron elegidas en base a un informe previo de la UE, que mostró que eran los productos con una mayor proporción de unidades en las que *L. monocytogenes* superaba la cantidad de 100 ufc/g. Las muestras fueron procesadas en el momento de la recogida y, en el caso de los productos de la pesca, también al final de su vida útil.

Tabla 4. Resultados de prevalencia en la EU de determinadas categorías comida lista para el consumo en el comercio minorista.

	% investigaciones positivas	% de muestras con recuento > 10 UFC/g	% de muestras con recuento > 100
Pescado t _{muestreo}	10,40	2,20	1,00
Pescado t _{in vida útil}	10,30	3,20	1,70
Carne t _{muestreo}	2,07	0,90	0,43
Queso t _{muestreo}	0,47	0,12	0,06

La prevalencia observada de *L. monocytogenes* en el pescado ahumado y marinado, así como en los productos cárnicos es compatible con las investigaciones reportadas por los estados miembros en los informes de resumen de la UE y con los hallazgos de la literatura. La prevalencia observada de *L. monocytogenes* en quesos tiernos o semi tiernos fue inesperadamente baja en relación a los informes UE.

Los resultados del estudio muestran que los sistemas de gestión de seguridad alimentaria de la industria láctea en la UE, correctamente diseñados e implementados, pueden producir alimentos conformes a los criterios microbiológicos normativos. Sin embargo, este no es el caso del pescado ahumado o marinado, ni en menor medida, de los productos cárnicos puesto que los niveles de presencia del microorganismo encontrados indican que los sistemas de aseguramiento de la calidad aplicados por los operadores de las empresas de este sector no son eficaces.

EL CONTROL DE *L. MONOCYTOGENES* EN COMIDAS PREPARADAS.

Se hace un repaso de la evolución en el control de *L. monocytogenes* desde los años 90, analizando la controversia entre la normativa basada en la evaluación del riesgo aplicada en la UE y la política basada en criterios de tolerancia cero que se aplica en los Estados Unidos (EEUU).

Cronograma

- **Directiva 93/43/CEE** de 14 de junio de 1993 relativa a la higiene de los productos alimenticios. Insta a los operadores por primera vez a aplicar sistemas de seguridad de los alimentos basados en el HACCP e introduce la posibilidad de elaborar Guías de Prácticas Correctas de Higiene sectoriales. No establece normas microbiológicas. Hasta este momento, sólo una directiva (1992/46/CEE) relativa a la leche y productos lácteos establecía criterios sobre *L. monocytogenes* (ausencia en 25 g en un plan de muestro de 5 unidades con el valor c=0 para quesos de pasta dura, y ausencia en 1 g para otros productos).
- **1995 (mayo)** Muere Stephen Churchill, primera víctima de la nueva variante de la enfermedad Creutzfeldt-Jakob. Inicio de una serie de crisis alimentarias en Europa (vacas locas, aceite de colza, dioxinas en piensos, gripe aviar) que llevarán a replantear las directrices en seguridad alimentaria de la UE.
- **Opinión del Comité Científico sobre Medidas Veterinarias relativas a la Salud Pública (SCVPH) respecto a *Listeria Monocytogenes*, expresado el 23 de septiembre 1999,** (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out25_en.pdf). Establece dos límites para alimentos listos para comer de origen animal:
 - Recuento inferior a 100 ufc/g para productos crudos o productos en los que *L. monocytogenes* no puede crecer, determinado en el momento del consumo y a lo largo de toda la vida útil, y
 - Ausencia en 25 g para productos con tratamiento térmico listericida en el envase definitivo o productos que permiten el crecimiento del patógeno, muestreados en el centro de producción.

- **Opinión del Comité Científico sobre Alimentos (SCF) respecto a *Listeria monocytogenes* expresada el 22 de junio del 2000** (http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out63_en.pdf) El SCF está de acuerdo con las conclusiones expresadas en la opinión del SCVPH. Apoya la opinión del SCVPH que todas las cepas de *L. monocytogenes* deben considerarse potencialmente patógenas y que los niveles de este microorganismo en los alimentos deben mantenerse bajos, vista la potencial gravedad de la enfermedad. El SCF considera que la recomendación del SCVPH sobre la concentración de *L. monocytogenes* en los alimentos listos para comer de origen animal deben aplicarse a todos los alimentos listos para comer, independientemente de su origen.
- **Real Decreto 3484/2000, de 29 de diciembre, por el que se establecen las normas de higiene para la elaboración, distribución y comercio de comidas preparadas.** (BOE núm. 11, de 12 de enero de 2001). Establece límites para *L. monocytogenes* según categorías de comidas preparadas:
 - A, sin tratamiento térmico, o con ingredientes sin tratamiento térmico
 - B, con tratamiento térmico
 - D envasadas, a base de vegetales crudos

Grupo	n	c	m	M
A y D	5	2	10	100
B	5	0	Ausencia en 25 g	

- **2002-2004 Publicación del Reglamento 178/2002 y del “Paquete de Higiene”.** Los nuevos reglamentos europeos combinan, armonizan y simplifican las exigencias de higiene, antes detalladas en varias Directivas del Consejo, que cubrían la higiene de los productos alimenticios, con especial dedicación en los productos de origen de animal. Su innovación es la realización de una política de higiene única, transparente y aplicable a todos los alimentos y todos los operadores de alimentos que intervienen “de la granja a la mesa”, junto con la introducción de instrumentos eficaces para gestionar la seguridad alimentaria y cualquier futura crisis alimentaria en todas las etapas de la cadena de alimentos. En estas medidas se impone como principal objetivo la garantía de un elevado nivel de protección de los consumidores en relación con la seguridad alimentaria.
- **Reglamento (CE) no 2073/2005 de la Comisión, de 15 de noviembre de 2005,** relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios. Supone un nuevo enfoque, dado que introduce conceptos dinámicos relacionados con los controles de producción, la vida útil del alimento, el uso que se va a hacer del mismo, así como el riesgo asociado al microorganismo a controlar. Especifica criterios de seguridad para comidas listas para el consumo en relación a *L. monocytogenes* (ver tabla 5).
- **2008. Documento guía SANCO/1628/2008 ver. 9.3 (26112008)** sobre estudios de vida útil en productos listos para el consumo en relación a *Listeria monocytogenes*, en virtud del Reglamento (CE) no 2073/2005 de 15 de noviembre de 2005, sobre criterios microbiológicos para los alimentos.
 ([http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/salmonella/docs/guidoc_Listeria monocytogenes en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/salmonella/docs/guidoc_Listeria_monocytogenes_en.pdf))
- **2008. Documento guía AFFSA ver 2.** de orientación en estudios de vida útil para *Listeria monocytogenes* en alimentos listos para el consumo.
 ([http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/salmonella/docs/shelflife_Listeria monocytogenes en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/salmonella/docs/shelflife_Listeria_monocytogenes_en.pdf))
- **2009. Comisión del Codex Alimentario (CAC).** Guía para la aplicación de principios generales de higiene alimentaria para el control de *L. monocytogenes* en comidas listas para el consumo (CAC/GL 61e2007).
 - Donde sea posible y práctico, debería desarrollarse un criterio microbiológico de acuerdo con el enfoque basado en el riesgo, tal y como se describe en los Principios y

- Directrices para la Aplicación de la Gestión de Riesgos Microbiológicos (CAC/GL-63, 2007) que puede usarse para asegurar o contribuir a asegurar que un sistema de control de alimentos logrará el nivel requerido de protección al consumidor.
- Las autoridades competentes podrán escoger, establecer e implementar otros límites validados para la concentración de *L. monocytogenes* en el punto de consumo o en otros puntos, que ofrezcan un nivel aceptable de protección al consumidor.
 - 2010 Chilled Food Association Ltd** La vida útil de alimentos listos para comer en relación con *L. monocytogenes*. Directrices para los operadores de empresas alimentarias. (<http://www.food.gov.uk/business-industry/guidancenotes/hygguid/readytoeat#.Ulfu> OD1sa)

Tabla 5. Anexo I, capítulo 1 del Reglamento 2073/2005 en lo relativo a *L. monocytogenes*

Categoría de producto	Plan de toma de muestras		Límites		Fase en la que se aplica el criterio
	n	c	m	M	
1.1 Alimentos RTE destinados a los lactantes, y alimentos listos para el consumo destinados a usos médicos especiales (4)	10	0	Ausencia en 25 g		Productos comercializados durante su vida útil
1.2 Alimentos RTE que pueden favorecer el desarrollo de <i>L. monocytogenes</i> , que no sean los destinados a lactantes ni a usos médicos especiales	5	0	100 ufc/g (5)		Productos comercializados durante su vida útil
	5	0	Ausencia en 25 g (7)		Antes de que el alimento haya dejado el control inmediato de la empresa que lo ha producido
1.3 Alimentos RTE que no pueden favorecer el desarrollo de <i>L. monocytogenes</i> , que no sean los destinados a lactantes ni a usos médicos especiales (4) (8)	5	0	100 ufc/g (5)		Productos comercializados durante su vida útil

- (4) En circunstancias normales, no se exige realizar pruebas regulares con respecto a este criterio para los siguientes productos alimenticios listos para el consumo:
- los que hayan recibido tratamiento térmico u otro proceso eficaz para eliminar *L. monocytogenes*, cuando la re contaminación no sea posible tras este tratamiento (por ejemplo, productos tratados térmicamente en su envase final),
 - frutas y hortalizas frescas, enteras y no transformadas, excluidas las semillas germinadas,
 - pan, galletas y productos similares,
 - aguas embotelladas o envasadas, bebidas refrescantes sin alcohol, cerveza, sidra, vino, bebidas espirituosas y productos similares,

- azúcar, miel y golosinas, incluidos productos de cacao y chocolate,
 - moluscos bivalvos vivos,
 - sal de cocina
- (5) Este criterio se aplica si el fabricante puede demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 ufc/g durante su vida útil. El explotador podrá fijar límites intermedios durante el proceso que deberían ser lo suficientemente bajos para garantizar que no se supere el límite de 100 ufc/g al final de la vida útil
- (7) Este criterio se aplica a los productos antes de que hayan abandonado el control inmediato del explotador de la empresa alimentaria cuando este no pueda demostrar, a satisfacción de la autoridad competente, que el producto no superará el límite de 100 ufc/g durante su vida útil
- (8) Se considera automáticamente que pertenecen a esta categoría:
- productos con $\text{pH} \leq 4,4$ o
 - productos con $a_w \leq 0,92$,
 - productos con $\text{pH} \leq 5,0$ y $a_w \leq 0,94$,
 - productos con una vida útil inferior a 5 días.
 - Otras categorías de productos también pueden pertenecer a esta categoría, siempre que se justifique científicamente.

Normativa UE vs. requisitos EEUU. El dilema de la tolerancia cero

Hay un debate internacional sobre cómo deben regularse *L. monocytogenes*. Debido a la ubicuidad de este microorganismo, los organismos reguladores en muchos países afirman que es imposible producir alimentos libres de *L. monocytogenes*. El debate se centra en si el límite debe establecerse en 100 ufc/g al final de la vida útil dado que este nivel no pone en riesgo a la mayoría de consumidores (no es inherentemente peligroso). De todas formas, es importante remarcar que la presencia de *Listeria* en los alimentos puede suponer un fallo en el control de su proceso productivo; el tal caso, necesitaría una investigación sobre su origen y la aplicación de medidas correctoras. El Codex Alimentarius establece que un elaborador de comida lista para el consumo debería tener implantado un programa de muestreo de equipos y superficies ante el riesgo de presencia de *L. monocytogenes*. Además, la normativa debería prever cierto grado de abuso de temperatura por parte del consumidor.

Una directiva del 2004 de Canadá y el Reglamento 2073/2005 de la UE establecen niveles de tolerancia para la *L. monocytogenes*. Los productos que han causado listeriosis humana se colocan en una categoría especial y son regulados más estrictamente (deben estar libres de *Listeria*) que los alimentos que no han causado nunca listeriosis (recuento <100 ufc/g). Se han elaborado guías para la realización de estudios de vida útil en productos listos para el consumo en relación a *L. monocytogenes*.

Por el contrario, el Reino Unido y los Estados Unidos mantienen criterios de tolerancia cero (ausencia en 25 g) de *L. monocytogenes*. Ambos países sostienen que la dosis infectiva debe ser conocida antes de que pueda establecerse un nivel aceptable del patógeno. Sin embargo, el criterio de tolerancia cero parece no ofrecer ningún beneficio adicional, ya que la incidencia de listeriosis en EEUU (alrededor de 0,7 por cada 100.000 personas) es similar a la de países europeos que aplican niveles de tolerancia. Pero puede que a medio plazo esta situación cambie ante:

- a) La petición popular suscrita en diciembre del 2003 por 15 asociaciones comerciales de los EEUU para que la Food and Drug Administration (FDA) adopte el límite de 100 ufc/g para aquellos alimentos que no permiten el crecimiento de *L. monocytogenes*.
- b) La publicación durante el 2008 por parte de la FDA del borrador de dos documentos guía acerca de *L. monocytogenes* (uno para su personal y otro para la industria), que incluyen el límite de 100 ufc/g para las comidas listas para el consumo que no permiten el crecimiento de *L. monocytogenes*.

- *Listeria monocytogenes*. Guidance for FDA Staff.
<http://www.fda.gov/ICECI/ComplianceManuals/CompliancePolicyGuidanceManual/ucm136694.htm>
- Draft guidance for industry: control of *Listeria monocytogenes* in refrigerated or frozen ready-to-eat foods.
<http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/GuidanceDocumentsRegulatoryInformation/FoodProcessingHACCP/ucm073110.htm>

Por otro lado, la eliminación progresiva de barreras comerciales para la liberalización del comercio mundial requiere la armonización de las especificaciones microbianas. Actualmente en España el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAAMA) impulsa y fomenta el comercio exterior de animales y productos de origen animal. El MAAMA es quien negocia con terceros países las condiciones de exportación de productos alimentarios de origen animal. Existen especificaciones concretas según el país de destino y el producto a exportar, consultables en la página web de CEXGAN (Comercio Exterior Ganadero, <http://cexgan.mapa.es/Modulos/Default.aspx>).

Factores críticos en el control de *L. monocytogenes* en comida preparada lista para el consumo.

1. Las medidas de control deben estar basadas en el análisis del riesgo y deben comprender todas las etapas de la cadena alimentaria, desde la granja a la mesa.
2. Es necesario una mayor concreción sobre la definición de comida lista para el consumo (RTE). Actualmente hay consenso en considerar la comida RTE como aquella que se come cruda o bien manipulada (cortada, mezclada, cocinada) de manera que se come sin ninguna etapa bactericida. Hay diversidad de consideraciones entre distintos países al clasificar comidas que se calientan ligeramente como RTE (procesos de escaldado o gratinado, por ejemplo).
3. Es imprescindible el cumplimiento de la normativa tradicional en seguridad alimentaria: cumplimiento del HACCP, seguimiento de unas Buenas Prácticas de Manipulación, Planes de Limpieza y desinfección, de Formación del Personal...
4. Los estándares sobre seguridad Alimentaria (IFS, BRC, ISO22000) deberían tener criterios comunes para el control de *L. monocytogenes*.
5. Deben desarrollarse Planes de comunicación en empresas y administración para la formación de personal o público en general o para la gestión de crisis relacionadas con *L. monocytogenes*.
6. Deben acreditarse laboratorios de referencia para la detección de *L. monocytogenes* y crear buenas redes de comunicación entre ellos.
7. Desde la perspectiva de la administración, en relación con *L. monocytogenes* son necesarias mejoras en:
 - La vigilancia epidemiológica: Para evitar la infranotificación de la enfermedad es necesaria una política activa en la notificación de la enfermedad (inclusión en la lista de enfermedades de declaración obligatoria), tanto en su vertiente invasiva como gastroentérica.
 - Adopción de las directrices del Codex Alimentarius (2009).
 - Requerimiento a los fabricantes de neveras domésticas para que incluyan equipos de monitoreo de la temperatura, con indicaciones de los límites que no se deben superar.
8. Desde el punto de vista de la investigación, en relación con *L. monocytogenes* son necesarias mejoras en:
 - Caracterización de la virulencia de sus cepas.
 - Investigación sobre la región de crecimiento/no crecimiento en alimentos concretos, curvas de crecimiento, creación de modelos predictivos e identificación de combinaciones de métodos barrera que proporcionen alimentos seguros.
 - Modelos dosis-respuesta.
9. Desde la visión de la industria, en relación con *L. monocytogenes* son necesarias mejoras en:

- Determinación y control de la a_w .
- Plan de muestreo ambiental y de superficies para la detección de *Listeria* spp. como indicador del riesgo de *L. monocytogenes*. Identificación de biofilms y procedimientos de verificación de las operaciones de desinfección.
- Empleo de los test de inoculación (challenge test) para demostrar la capacidad del microorganismo de crecer o no crecer en sus productos. Estudios de validación de la caducidad al final de la vida útil y tras la apertura del envase.
- Adopción de métodos rápidos de detección del patógeno, que garanticen alta especificidad y sensibilidad.
- Trazabilidad
- Información al consumidor en el etiquetado.
- Detección de procesos fuera de control: registros en continuo, análisis de tendencias.

BIBLIOGRAFIA

1. Bell, C y Kyriakides, A. (1998). *Listeria*. Una aproximación al microorganismo y su control en los alimentos. Acribia
2. McLauchlin, J. Et al. (2004). *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *International Journal of Food Microbiology* 92 (2004) 15– 33.
3. Thomas J. Montville and Karl R. Matthews (2008). *Food microbiology: an introduction*. ASM Press, cop. 2008
4. Codex Alimentarius Commission (CAC). (2009). Guidelines on the application of general principles of food hygiene to the control of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods (CAC/GL 61e2007). Codex Alimentarius Commission. Available at: ftp://ftp.fao.org/codex/Alinorm09/al32_13e.pdf Accessed 28.07.10.
5. Dufour, C (2011). Application of EC regulation no. 2073/2005 regarding *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods in retail and catering sectors in Europe. *Food Control* 22 (2011), pp 1491-1494
6. Lubber, P. et al (2011). Controlling *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat foods: Working towards global scientific consensus and harmonization e Recommendations for improved prevention and control. *Food Control* 22 (2011) 1535 -1549.
7. EFSA, ECDC (2013). The European Union Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents and Food-borne Outbreaks in 2011. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. *EFSA Journal* 2013;11(4):3129
8. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) (http://www.aesan.msc.es/AESAN/web/sobre_aesan/sobre_aesan.shtml)