



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Veterinarias
Programa de Magíster en Tecnología y Seguridad
de los Alimentos de Origen Animal

**PRESENCIA DE *Listeria monocytogenes*
EN LA INDUSTRIA SALMONERA EN LA CIUDAD DE
QUELLÓN**

Trabajo de especialización para optar al grado de Magíster en Tecnología y
Seguridad de Alimentos de Origen Animal

**CARLA GABRIELA ARROYO BARRIENTOS
CHILLÁN – CHILE
2024**

Profesora guía: BQ. Sandra Quilodrán Vega
Departamento de Patología y Medicina Preventiva
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Concepción

Este trabajo de especialización ha sido realizado en el Departamento de Patología y Medicina Preventiva de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Concepción.

Profesor guía:

BQ. Sandra Quilodrán Vega
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Concepción

Comisión evaluadora:

Prof. Mario Briones Luengo
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Concepción

Prof. Danny Fuentes Castillo
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Concepción

Prof. Pedro Melín Marín
Facultad de Ingeniería Agrícola
Universidad de Concepción

Director del Programa:

Prof. Reinaldo Letelier Contreras
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad de Concepción

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO	PÁGINA
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIALES Y MÉTODO.....	5
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	6
IV. CONCLUSIONES.....	29
V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°	PÁGINA
En el texto	
1. Fuentes de contaminación en ambientes de procesos (FSAI, 2005).....	13
2. Presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> en 25 g en planta, producto, tipo de presentación, tipo de producto, línea de elaboración y año en verificaciones oficiales (SERNAPESCA,2023)	15

RESUMEN

PRESENCIA DE *Listeria monocytogenes* EN LA INDUSTRIA SALMONERA EN LA CIUDAD DE QUELLÓN

Los factores microbiológicos, entre otros, determinan la seguridad de los alimentos de origen animal, ya que pueden transmitir enfermedades a través de alimentos contaminados. En esta revisión, se analizó la presencia de una bacteria patógena llamada *Listeria monocytogenes* en producto terminado de siete plantas de procesos de salmones para exportación, plantas que tienen un Programa de Aseguramiento de Calidad basado en APPCC (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control) y son supervisadas por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA) en la ciudad de Quellón. El análisis fue realizado a partir de resultados oficiales de cada planta procesadora de salmones. Se identificaron los factores más importantes implicados en la contaminación del producto. Y se concluyó que los lugares más comunes de aislamiento de cepas de *Listeria* persistentes fueron los suelos, los desagües, las cintas transportadoras, máquinas cortadoras y superficies de mesas, se detectaron frecuentes malas prácticas, insuficiente capacitación de personal nuevo, aseos deficientes y los principales factores de riesgos son la dificultad de limpieza de los equipos y protocolos de higiene. Un hallazgo detectado en los procedimientos de saneamiento de las plantas fue el no control ni registro de la temperatura con la que aplican los productos destinados a la higiene.

Palabras clave: salmón, contaminación, *Listeria monocytogenes*, planta de proceso.

ABSTRACT

PRESENCE OF *Listeria monocytogenes* IN THE SALMON INDUSTRY IN THE CITY OF QUELLÓN

Microbiological factors, among others, determine the safety of food of animal origin, as they can transmit diseases through contaminated food. In this review, the presence of a pathogenic bacterium called *Listeria monocytogenes* was analysed in finished products from seven salmon processing plants for export, plants that have a Quality Assurance Programme based on HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points) and are supervised by the National Fishing and Aquaculture Service (SERNAPESCA) in the city of Quellón. The analysis was carried out on the basis of official results from each salmon processing plant. The most important factors involved in product contamination were identified. And it was concluded that the most common places of isolation of persistent *Listeria* strains were floors, drains, conveyor belts, cutting machines and table surfaces, frequent bad practices, insufficient training of new personnel, poor sanitation and the main risk factors are the difficulty of cleaning equipment and hygiene protocols. A finding detected in the sanitation procedures of the plants was the lack of control and recording of the temperature at which hygiene products are applied.

Keywords: salmon, contamination, *Listeria monocytogenes*, processing plant.

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas salmoneras de la comuna de Quellón, son siete y la totalidad de ellas exporta sus productos al mundo. Los establecimientos se fiscalizan mediante un Programa de Aseguramiento de Calidad (PAC) que es supervisado por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA). Bajo este programa las plantas deben realizar verificaciones quincenales de su producto terminado, correspondiente a un muestreo donde se analizan parámetros físico-químicos y microbiológicos.

Cada seis verificaciones quincenales se realiza un muestreo de verificación que es considerado oficial con la presencia del SERNAPESCA en el establecimiento, en estas verificaciones se ha detectado ocasionalmente la presencia de *Listeria monocytogenes* en el producto terminado, por lo que se puede suponer que este patógeno está habitualmente en los lugares donde se procesan los alimentos y no es detectado oportunamente (SERNAPESCA, 2022).

L. monocytogenes, es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, de morfología cocobacilar, que posee un flagelo polar, no tiene cápsula y no forma esporas. *L. monocytogenes* se encuentra normalmente en el ensilaje, en el suelo (tierra) y agua (canales, ríos, lagos). La bacteria, además, posee diversas respuestas frente al stress encontrado en el alimento y en el ambiente de proceso del alimento, una vez que tolera un amplio rango de temperatura (0 °C to 45 °C), altas concentraciones de sal (sobre 10% NaCl) y niveles de pH que pueden ir de

4.5 a 9.2 (Bodie, 2023). El tratamiento de pasteurización es a 71°C durante 15 segundos para destruir células vegetativas (NSW, 2019).

Si bien las respuestas de *L. monocytogenes* al stress ambiental confieren a la bacteria una defensa adaptativa al medio, las mismas respuestas juegan un rol muy importante en la patogenicidad de la bacteria, una vez que las respuestas de adaptación le permiten sobrevivir en el paso del tracto gastrointestinal, significando que, una cepa no virulenta expuesta al stress presente en los alimentos, expresa su estado patogénico virulento dentro del huésped, en el tracto gastrointestinal (Sibanda y Buys, 2022).

La patología causada por *L. monocytogenes* es la listeriosis y los grupos sensibles son personas con la inmunidad comprometida, personas mayores a 65 años y mujeres embarazadas y sus bebés. La infección puede cursar de manera asintomática en personas sanas y no genera ninguna sospecha, sin embargo, puede presentarse con síntomas gastrointestinales leves. En personas adultas, la presentación más común de la listeriosis es la bacteremia, sin embargo, la bacteria posee un tropismo por el sistema nervioso central y causa meningitis, donde las primeras señales son rigidez del cuello, fiebre y dolor de cabeza. Por otra parte, si la bacteremia es causada en una mujer embarazada, la bacteria puede atravesar la placenta. La madre presenta síntomas parecidos a un resfrío, como fiebre, dolor de cabeza, antes de presentar aborto (Donovan, 2015).

L. monocytogenes es una bacteria psicrófila, lo que significa que se multiplica a temperaturas de refrigeración (Maćkiw, 2020), lo que representa un riesgo mayor para los productos listos para consumo, ya que las plantas salmoneras despachan salmones

enfriados-refrigerados principalmente al mercado asiático, mercado con una costumbre alimentaria de consumo crudo.

Por esta razón, es relevante revisar los procedimientos de higiene de las plantas de procesos, ya que podría implicar que estos no sean eficaces para el control de *L. monocytogenes*, identificando superficies de riesgo de contaminación en el producto, frecuentes malas prácticas, acciones correctivas y preventivas en base a la revisión de estudios científicos.

Según los antecedentes de la unidad de Inocuidad y Certificación de la oficina comunal de Quellón, desde el año 2018, al menos una planta de las siete supervisadas arrojó resultados de presencia de *L. monocytogenes* en el producto terminado, luego de muestreos oficiales. A excepción del año 2020, que no tuvo ningún evento desfavorable, el que pudo ser atribuido a la pandemia de COVID-19, que extremó las medidas bioseguridad e higiene en todos los establecimientos y que reforzó las buenas prácticas de manufactura en las plantas de proceso de salmones (SERNAPESCA, 2022)

Objetivo General

Analizar la presencia *L. monocytogenes* en producto terminado de líneas de procesos de salmónes de acuerdo con resultados de verificaciones oficiales.

Objetivos específicos

1. Identificar las superficies de mayor importancia implicadas en la contaminación con *Listeria monocytogenes* durante el proceso de salmón.
2. Identificar malas prácticas de manufactura y factores de riesgo en el proceso de salmón.
3. Analizar los procedimientos de saneamiento de las plantas fiscalizadas y proponer acciones preventivas.

II. MATERIALES Y MÉTODO

La información se recopiló de revistas científicas, tesis, libros, estudios, informes e investigaciones encontradas a través de la búsqueda en bases de datos de la Biblioteca de la Universidad de Concepción (SIBUDEC), dentro de la cual se utilizaron los buscadores: ScienceDirect ©, Web of Science ©, PubMed ©, EBSCO©, Scielo©, e-libro, entre otros. También se buscó en portales de Internet de organizaciones como la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). Para la búsqueda de los artículos se ocuparon las siguientes palabras claves: salmón, contaminación, *Listeria monocytogenes*, presencia, planta de proceso, salmones. De todas las publicaciones encontradas se seleccionaron aquellas en idioma español, inglés y japonés, traducidos con la página web DeepL Translator, de preferencia de los últimos 10 años, consideradas relevantes en la realización de la presente investigación bibliográfica.

El trabajo se desarrolló siguiendo el orden que a continuación se describe: definición del tema y de sus objetivos, planificación de la recopilación de la información bibliográfica y resultados en verificaciones quincenales oficiales de las siete plantas de exportación, revisión de programas de saneamiento y revisión de las observaciones levantadas durante las inspecciones de fiscalización de los programas de aseguramiento de calidad de estas siete plantas.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Normativa y requisitos de mercado. En Chile, la autoridad responsable de garantizar la calidad sanitaria de los productos pesqueros y acuícolas para exportación y de dar cumplimiento a los requisitos sanitarios de los países importadores, es el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (SERNAPESCA), dependiente del Ministerio de Economía y Fomento. El Programa de Aseguramiento de Calidad (PAC) es requisito para plantas que elaboran productos de exportación a países que lo exijan. Está basado en HACCP (Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control o ARPCC) y es supervisado por el SERNAPESCA. Este programa cuenta con verificaciones quincenales, las que incluyen análisis toxicológicos, químicos-físicos y microbiológicos del producto final. Dichas verificaciones son derivadas a laboratorios oficiales y autorizados por el SERNAPESCA.

Entre los análisis de control microbiológico, se realiza la determinación de la presencia o ausencia de *L. monocytogenes*, para mercados con este requisito. Como lo son: Unión Económica Euroasiática, Turquía y Costa Rica (SERNAPESCA, 2023).

En caso que los productos congelados requieran inequívocamente ser cocinados previo a su consumo y esta condición sea claramente rotulada, se podrá obviar el análisis de *L. monocytogenes*.

Para el mercado de Turquía, se exige la ausencia de *L. monocytogenes* en 25 g, en todos aquellos alimentos congelados y enfriados refrigerados o ahumados que puedan ser consumidos de manera directa (SERNAPESCA, 2023).

Las plantas que tienen como mercado de destino la Unión Europea y que producen alimentos listos para consumir (LPC) y productos crudos en que no existe certeza de que sean consumidos cocidos, deben tomar siempre muestras de las zonas y el equipo de producción, como parte de su plan de muestreo, con el fin de detectar la posible presencia de *L. monocytogenes*.

Además, para el mercado de Unión Europea y otros mercados, se deben cumplir los requisitos microbiológicos: criterios de seguridad alimentaria y de higiene de los procesos (Reglamento (CE) N° 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios). Estos se aplican a alimentos congelados listos para el consumo que pueden favorecer el crecimiento de *L. monocytogenes*. El resultado será satisfactorio si todos los valores observados son ≤ 100 UFC/g. Se considerarán dentro de esta categoría a aquellos alimentos que no cumplan con los criterios descritos a continuación:

- i) productos que hayan recibido tratamiento térmico u otro proceso eficaz para eliminar *L. monocytogenes*, cuando la recontaminación no sea posible tras ese tratamiento (por ejemplo productos tratados térmicamente en su envase final) y en moluscos bivalvos vivos y
- ii) productos con $\text{pH} \leq 4,4$ o $a_w \leq 0,92$, productos con $\text{pH} \leq 5,0$ y $a_w \leq 0,94$, y los productos con una vida útil inferior a 5 días (SERNAPESCA, 2023).

Para los alimentos enfriados refrigerados o ahumados listos para el consumo, el resultado se considerará insatisfactorio si en cualquiera de las muestras se detecta la presencia de la bacteria en niveles mayores a 10 UFC/g (SERNAPESCA, 2023).

***Listeria monocytogenes* y superficies de mayor importancia durante el proceso de elaboración.**

La listeriosis es una de las enfermedades de transmisión alimentaria más graves, aunque relativamente rara (0,1 a 10 casos anuales por millón de personas, dependiendo del país y la región) (OMS,2018). Si bien el número de casos es pequeño, la alta tasa de mortalidad de esta infección la convierte en un importante problema de salud pública (OMS, 2018). La listeriosis ha sido una enfermedad notificable en Chile desde 2005. En 2008 y 2009, ocurrieron dos grandes brotes, asociados con el consumo de queso blando y embutidos o productos cárnicos. Desde entonces ha habido un ligero aumento de infecciones esporádicas. Según datos oficiales, el número de casos notificados entre 2015 y 2018 fue de 75, 65, 83 y 97, respectivamente, con una tasa de mortalidad entre el 20 y el 25 por ciento (Safety Food News, 2021).

La presencia de *L. monocytogenes* en productos alimenticios se ha asociado con alimentos como productos listos para consumir, carnes, productos del mar, leche y productos lácteos sin pasteurizar; frutas y verduras frescas, pre cortadas y congeladas: verduras de hojas verdes y sándwiches (Desai, 2019). Y la mayoría de las enfermedades

en humanos producidas por *L. monocytogenes* se asocian a los serotipos 1/2a, 1/2b, 1/2c y 4 b (Maćkiw *et al.*, 2020). El serotipo 4b es el que se considera más patógeno y el 1/2a el más prevalente en el entorno de la industria alimentaria (Laksanalamai *et al.*, 2014).

Las biopelículas formadas por *L. monocytogenes* son consorcios microbianos adheridos a las superficies, incrustadas en una matriz de sustancias poliméricas extracelular que consta de polisacáridos, proteínas y ADN (González-Rivas *et al.*, 2018). Las biopelículas permiten que las bacterias persistan en los entornos de procesamiento de los alimentos en lugares que no son fáciles de desinfectar con soluciones de limpieza convencionales, como las máquinas de corte, las zonas de ahumado, los contenedores y grietas de los pisos, por lo que se considera un problema crítico en la industria salmonera (McEntire, 2018). La dinámica de colonización y la supervivencia de *L. monocytogenes* son específicas de cada cepa y están relacionadas con diversos mecanismos, elementos ambientales y genéticos. Se demostró que la capacidad de formar biopelículas era diferente de una cepa a otra y no estaba vinculada a diferencias en el crecimiento en condiciones del entorno de procesamiento como otras especies. En el estudio de asociación de todo el genoma (GWAS) realizado no se identificó genes específicos, cabe señalar que el transcriptoma global indicó que los mecanismos metabólicos estaban regulados al alza, lo que sugiere que la especie utiliza su amplio repertorio metabólico y de transporte para iniciar una rápida adaptación a condiciones de escasez de nutrientes, todo ello implicando la producción de componentes estructurales celulares para la expansión de la biopelícula, adhesión inicial y crecimiento. (Gray, 2021).

L. monocytogenes puede soportar el estrés ambiental, incluida la desinfección, entrando en un estado VPNC (viables pero no cultivables). Las células bacterianas en estado VPNC adoptan tasas de crecimiento más bajas y niveles de metabolismo reducidos; por ejemplo, hay una ralentización en la tasa de respiración, del transporte de nutrientes y de la síntesis macromolecular. También podrían disminuir su tamaño celular (superficie/volumen) reduciendo sus necesidades energéticas (Bodor *et al.*, 2020).

Una explicación de la formación de VPNC es que cuando los microorganismos en crecimiento activo se enfrentan a un choque repentino, como la escasez de nutrientes, el cambio de pH o la presencia de metabolitos nocivos, se produce una disociación entre el desarrollo y el metabolismo. En consecuencia, las células pueden sufrir un aumento de metabolismo oxidativo, que acumulará peróxidos y otros radicales libres dentro de las células (Munn, 2020). Este mecanismo es para resistir las condiciones de estrés ambiental como temperaturas extremas, desecación, estrés químico por pH subóptimo y tratamiento con etanol, cloro, limpiadores domésticos, antibióticos o biocidas (Afari y Hung, 2018). Se ha observado que el tratamiento de desinfección a base de cloro y los surfactantes no iónicos combinados con sales inorgánicas pueden inducir el estado de VPNC (Noll *et al.*, 2020).

Lo que es más preocupante del estado VPNC de *L. monocytogenes*, es que estas células se mantienen activas e infecciosas (Highmore *et al.*, 2018). Por lo tanto, esto supone una amenaza no vista (por las técnicas de cultivo) pero potente para la seguridad alimentaria como para la salud pública. Las cepas de *L. monocytogenes* que sobreviven en un entorno de procesamiento durante un periodo prolongado son denominadas cepas de *L.*

monocytogenes persistentes (Ferreira, 2014). Por otro lado, las cepas de *L. monocytogenes* que se encuentran en el ambiente de producción, pero que se eliminan a través de los esfuerzos de limpieza y sanitización se denominan cepas de *L. monocytogenes* transitorias. Las cepas de *L. monocytogenes* también pueden ser persistentes transitorias, refiriéndose a uno o más subtipos de *L. monocytogenes* en el entorno de procesamiento, por ejemplo, a través de los ingredientes crudos, desde el entorno circundante (Belias, 2022).

La microbiota residente en las plantas de procesado de alimentos puede influir en el crecimiento de *L. monocytogenes*. En las biopelículas multiespecíficas, las interacciones pueden ser competitivas, cuando otros microorganismos suprimen *L. monocytogenes*; cooperativas, cuando aumentan la proliferación y la supervivencia de *L. monocytogenes* en las biopelículas; o neutras. Las biopelículas multiespecíficas pueden proporcionar nichos estables para *L. monocytogenes*, donde la matriz extracelular que las recubre puede albergar células y protegerlas de biocidas y otros factores de estrés (Gray, 2018). En particular, *L. monocytogenes* altera su membrana, aumentando la concentración de los ácidos grasos de superficie, lo que impide la entrada de productos químicos, como ciertos biocidas, este mecanismo se ha descrito para las cepas resistentes originales y no para cepas sensibles naturales (Bisbiroulas et al., 2011).

Se han descrito otros estudios que muestran el papel de la modificación de la superficie de membrana en este patógeno como responsable de la reducción de la susceptibilidad al peróxido de sodio, al hipoclorito de sodio, al ácido peracético y al benzalconio (Kostaki et al., 2012). Los autores informaron además que, en las biopelículas, *L. monocytogenes*

desarrolló una mayor tolerancia a la limpieza y desinfección en el tiempo, tanto para el ácido peracético como para los amonios cuaternarios. También se demostró que las células de las biopelículas de *L. monocytogenes* eran tolerantes al hipoclorito de sodio, ácido peracético y peróxido de sodio con ácido peracético.

Aunque se ha reconocido que los microorganismos pueden desarrollar resistencia y volverse más resistentes a los desinfectantes una vez que se adhieren a una superficie, las pruebas de suspensión se siguen utilizando como métodos estándar para evaluar los desinfectantes en la higiene de los alimentos (Duze, 2021).

Superficies asociadas a contaminación

Las fuentes de contaminación en las áreas de procesamiento de alimentos pueden ser directas o indirectas, las superficies directas son aquellas que tienen contacto directo con los alimentos, esto incluye cualquier tipo de alimento; crudo, cocido o listo para consumo. Éstas pueden ser por ejemplo: tablas de cortar, cuchillos, cintas de transporte de filetes, máquinas como despinadoras, despieladoras, fileteadoras. Por otra parte, las superficies indirectas son las que no tienen contacto directo con los alimentos pero pueden influir en la seguridad e higiene de estos; como por ejemplo: desagües, pisos, murallas, etc. (FSAI, 2005). Las fuentes de contaminación en ambientes de proceso se encuentran señaladas en la Tabla 1.

Tabla 1. Fuentes de contaminación en ambientes de procesos (FSAI, 2005).

Directos	Indirectos
Cintas transportadoras	Desagües
Túneles de congelación	Pisos y pasarelas
Contenedores	Murallas
Herramientas de mano	Techos
Ropa de protección	Mantenimientos de equipos
Contenedores utilizados para el transporte del producto terminado	Equipos de limpieza
Equipos de empaque	Equipos de transporte
Equipos cortadores y mezcla	Rellenos de paredes o tuberías
Inyección de salmuera y otras soluciones	Aire, vapor o condensación

En esta revisión se encontraron algunos estudios donde se demostró presencia de *L. monocytogenes* en superficies, ya que puede persistir durante varios meses o años en las superficies de los entornos de procesamiento de alimentos (FSAI, 2005).

Dauphin (2001) detectó *L. monocytogenes* en desagües, suelos, ruedas de carros u otros equipos móviles, botas del vestuario, suelo del almacenamiento y piso del lavado de una instalación de salmón ahumado y en un estudio de Klæboe (2006), se detectaron lugares

de persistencia como suelo, equipo de cocción, sistema de bombeo a la cocina, cubetas, carretillas, cintas transportadoras, despieladoras, porcionadoras, fileteadora y rebanadora. Al igual que en el estudio de Blatter (2010), se identificaron lugares de persistencia como: rebanadoras, cintas transportadoras, espátulas, guantes, máquina de alimentación de pan, mangueras de agua, mangueras de aire, escobilla de goma, suelo, dispensador de guantes, desagüe, estantería, suelo.

Situación de plantas exportadoras de salmones de Quellón

En las plantas exportadoras de salmones de Quellón, se ha registrado desde el año 2018, que al menos una planta de las supervisadas arrojó resultados de presencia de *L. monocytogenes* en verificaciones quincenales oficiales de producto terminado. En la Tabla 2, se detallan datos recogidos de la oficina comunal SERNAPESCA, Unidad de Inocuidad y certificación de Quellón, correspondientes a las verificaciones que han salido desfavorables de producto terminado en las siete plantas entre los años 2018 al 2022. La tabla indica año de los eventos desfavorables por presencia de *L. monocytogenes* en 25 g, tipo de producto que se muestreó, presentación y línea de elaboración (congelado o enfriado-refrigerado). (SERNAPESCA, 2023).

Tabla 2. Presencia de *Listeria monocytogenes* en 25 g en planta, producto, tipo de presentación, tipo de producto, línea de elaboración y año en verificaciones oficiales (SERNAPESCA, 2023).

Planta	Producto	Tipo de presentación	Tipo de producto	Línea de elaboración	Año
1	Filete de Salmón salar	Filete con piel	Crudo IQF	Congelado	2019
2	Salmon entero	S/vísceras; c/agallas; c/cabeza (HON)	Crudo IQF	Congelado	2019
	Salmón entero	Sin vísceras; con agallas; sin cabeza (HG)	Crudo IQF	Congelado	2021
3	Salmón entero	Sin vísceras; con agallas; con cabeza (HON)	Crudo	Enfriado Refrigerado	2019
4	Salmón porciones	Porción sin piel s/espinas	Crudo IQF	Congelado	2022
	Salmón porciones	Porción sin piel sin espinas	Crudo IQF	Congelado	2022
5	---	---	---	---	---
6	---	---	---	---	---
7	Salmón filete	Filete sin piel	Crudo IQF	Congelado	2018
	Salmón filete	Filete con piel	Crudo IQF	Enfriado Refrigerado	2019

Se detectó *L. monocytogenes* con una prevalencia del 16% en muestras ambientales recolectadas durante un período de seis años (2003-2008) en un estudio hecho en Italia por (Di Ciccio, 2012) y en el estudio de Dalmaso (2013), las muestras de superficies sin

contacto con los alimentos fueron las más contaminadas, como; pisos, desagües y ruedas de carros. Por otro lado en el estudio de Brauge (2020) realizado en una planta, las células viables cultivables (VC) de *L. monocytogenes* se detectaron antes de las operaciones de limpieza y desinfección en dos áreas críticas, incluido el 50 % de las muestras recolectadas en las cuchillas de la rebanadora y el 25 % en una bandeja de corte, pero no se detectó después de las operaciones de limpieza y desinfección habitual. Además, la prevalencia de poblaciones de VPNC aumentó después de las operaciones de corte y desinfección en las cuchillas de la cortadora y se mantuvo estable en la bandeja de corte después de las operaciones de corte.

Por último, en el estudio de Stessl (2020) se encontró *L. monocytogenes* en drenajes almacenamiento, zonas de procesamiento de materias primas, zonas de tratamiento térmico, pasillos. Al igual que un estudio realizado en Chile por Barría (2020), encontraron en el área de procesamiento de quesos, que los desagües, paredes y suelos eran los lugares que tenían mayor prevalencia de *L. monocytogenes*. Y por último en los resultados de muestras ambientales que realizó el estudio de Cripe (2021), demostró que en cuatro de cinco instalaciones se aisló *L. monocytogenes* desde desagües, suelos y equipos en contacto directo con el suelo.

Prácticas inadecuadas de manufactura y factores de riesgo durante el proceso de elaboración de salmones.

El proceso de elaboración de salmones es un proceso lineal complejo que tiene que ver con las características de la materia prima, equipos utilizados para su proceso para facilitar la presentación de los productos que se elaboran. Y dentro de los equipos utilizados por la industria actualmente están: chillers de desangrado y enfriamiento, evisceradoras, despinadoras, descamadoras, fileteadoras, porcionadoras, selladoras al vacío. En los pasos operacionales, las buenas prácticas de manufacturas de los manipuladores, los procedimientos de higiene y saneamiento son procesos que se deben cumplir con rigurosidad para mantener un producto inocuo y el punto más crítico es mantener el proceso de higienización y sanitización cada día dentro de las salas de proceso, lo que no siempre se puede mantener con rigurosidad debido alto nivel de producción diaria.

En el estudio de Aalto-Araneda *et al.* (2019), la contaminación por *L. monocytogenes* sólo se produjo en los productos rebanados y fue significativamente más común en el producto salado en frío (gravad) que en el pescado ahumado en frío. Además, los resultados indicaron que las medidas de higiene rutinarias son importantes para la prevención de *L. monocytogenes* y éstas no se llevaron a cabo eficientemente en todas las plantas de procesamiento. En concreto, las mejoras en las rutas higiénicas y el saneamiento exhaustivo del entorno de procesamiento y la maquinaria pueden ser prioridad en la prevención de la contaminación de los productos por *L. monocytogenes*.

De acuerdo a un análisis de la literatura disponible sobre cepas de *Listeria* spp. realizado por Belias *et al.* (2022), se describe que las diferentes especies de *Listeria* se utilizan a menudo como índice para la presencia de *L. monocytogenes*, ya que suelen habitar entornos similares, ya que si se detecta presencia de *Listeria* spp., es muy probable que haya presencia de *L. monocytogenes*. Por ello, los datos de persistencia de *Listeria* spp. pueden proporcionar información útil sobre la persistencia de *L. monocytogenes* en entornos de procesamiento de alimentos.

En base a estos estudios fueron identificados 5 lugares más comunes de aislamiento de cepas de *Listeria* persistentes: los suelos, los desagües, las cintas transportadoras, máquinas cortadoras y superficies de mesas.

Y de nueve estudios donde se analizaron factores de riesgo que disminuyen o aumentan la probabilidad de que *L. monocytogenes* desarrolle persistencia, cinco de estos estudios, mencionaron como factor de riesgo; la facilidad de limpieza de los equipos y la falta de zonificación higiénica; dos mencionaron rutinas o protocolos de limpieza; dos materias primas o áreas de materia prima; dos mencionaron el tipo de producto; uno mencionó la condensación por goteo y uno mencionó los sistemas de alta presión que facilitan la propagación de partículas. Además, las intervenciones probadas en los estudios pertinentes para la eliminación de cepas de *Listeria* persistentes fueron muy variables al igual que los resultados sobre las cepas de *Listeria* persistente (Belias *et al.*, 2022).

Acciones preventivas

Los Programas Operacionales de Saneamiento (POS) de plantas exportadoras de salmónes de la comuna de Quellón, se basan en las recomendaciones de los pasos de higiene y saneamiento recomendados por USFDA (2017) para evitar la contaminación por *L. monocytogenes*, las que consisten en un barrido seco realizado con escobillones barre agua para arrastrar los sólidos, luego un barrido húmedo realizado con mangueras a presión sobre estructuras, aplicación del detergente que es aplicado a baja o media presión con máquinas generadores de espuma, una acción mecánica de forma circular y ejerciendo presión; posteriormente el enjuague para eliminación de suciedad y detergente con agua con diferentes grados de temperatura y con baja o media presión. Por último, una inspección de limpieza por el monitor de calidad, una vez aprobado este se realiza el sanitizado por aspersion y por último el enjuague con agua fría a media presión.

Los procedimientos de saneamiento deben incluir los siguientes pasos descritos en la guía de la FDA (US FDA, 2017):

- Limpieza en seco o recogida: se retiran todos los restos de materia prima, el producto terminado y los materiales de envasado de la zona que se va a limpiar. Utilizando herramientas apropiadas (como cepillos y raspadores), se debe retirar la suciedad pesada o los residuos del equipo y a continuación, de los suelos. Limpiar las zonas sensibles al agua y cubrirlas con láminas de plástico.

- Enjuague previo o lavado: desde la parte superior del equipo hacia abajo, enjuagar con agua para eliminar toda la suciedad visible. Utilizando las herramientas adecuadas, se retira cualquier resto de suciedad del suelo y los desagües; a continuación, se enjuaga el suelo, y se limpian los desagües utilizando herramientas adecuadas para uso exclusivo en desagües.
- Enjabonar y fregar (acción mecánica): aplicación de espuma limpiadora para garantizar una cobertura adecuada, espumando primero las paredes (si es necesario), los suelos y, el equipo desde la parte inferior hasta la superior. Frotar el equipo para eliminar cualquier residuo y evitar que la espuma limpiadora se seque.
- Enjuague posterior: se debe eliminar el limpiador de espuma enjuagando por inundación las paredes (si es necesario), suelos y equipos en el mismo orden en que se aplicó la espuma.
- Preparación para la inspección: Eliminar cualquier posible condensación o agua estancada y preparar el equipo para la inspección.
- Inspección previa a la operación: inspeccionar visualmente el equipo para comprobar la eficacia de la limpieza y se corrija cualquier deficiencia; las linternas pueden ser útiles en este caso. Además, se debe verificar la limpieza con hisopos ATP (luminómetro) para verificar inmediatamente que la limpieza ha sido adecuada.
- Desinfección y montaje: desinfectar el equipo, los suelos y (si aplica) las paredes y prepare el equipo para su funcionamiento, utilizando la bioluminiscencia ATP u otra prueba adecuada como saneamiento.

Recomendaciones para el control de *Listeria monocytogenes*

Las recomendaciones generales para el control de *L. monocytogenes* dentro de los establecimientos se basan en los siguientes aspectos:

Posibles intervenciones para limitar la proliferación de la listeria en los alimentos:

- Aditivos y conservantes
- Tratamiento de frío
- Atmósfera protectora
- Curado con aceite o especias
- Tratamiento térmico

Posible intervención para limitar la proliferación de la listeria en el entorno:

- Gestión del entorno de producción
- Gestión del equipo de procesamiento
- Control del agua
- Programa de higiene
- Mantener limpias las superficies que están en contacto con los alimentos
- Limpieza y desinfección de los equipos de limpieza
- Evitar la contaminación cruzada
- Reforzar las prácticas de higiene personal
- Desinfectar el equipo de protección personal
- Realizar el mantenimiento de refrigeradores y vaporizadores
- Controlar suelos y desagües

- Supervisar trabajos en el edificio
- Mapa de listeria en la fábrica

Procedimientos estándares:

- Limpieza diaria
- Desinfección previa o final
- Limpieza a mitad de turno
- Higiene de manos

Las plantas de procesamiento de alimentos son ambientes relativamente cerrados y es posible desarrollar distintos tipos de control para prevenir la contaminación de las plantas por *L. monocytogenes*. Sin embargo, el sistema falla cuando el establecimiento pierde el control, observándose flujos cruzados entre líneas de productos crudos y de productos terminados, el movimiento del personal y deficiencias en los programas de limpieza y desinfección. Las fallas pueden permitir la introducción de *L. monocytogenes* en varios puntos y tiempos del día, haciendo potencialmente más difícil su control (MINSAL, 2009). Es importante destacar de la revisión del estudio de Belias et al. (2022), que algunas pruebas científicas iniciales sobre los lugares de persistencia de *L. monocytogenes* y sus intervenciones podrían ser utilizadas por la industria, para diseñar estrategias preventivas (por ejemplo, limpieza profunda dirigida a los lugares de persistencia frecuente); desarrollar e implementar investigaciones de análisis de la persistencia de *L. monocytogenes*, y seleccionar e implementar intervenciones que estén respaldadas científicamente. Sin embargo, cada intervención requiere una validación de su efectividad

en una planta determinada, particularmente debido al hecho de que hay una variación considerable entre las instalaciones en muchas áreas relevantes (por ejemplo, materiales de construcción y edificación, edad de la instalación y del equipo, desinfectantes utilizados, procedimientos de aplicación de desinfectantes). Sin duda que, una revisión formal de los hallazgos científicos por parte de las empresas podría justificar las decisiones al implementar intervenciones que aborden la persistencia de *L. monocytogenes*. Actualmente, las plantas de Quellón realizan muestreos ambientales y realizan acciones correctivas cuando obtienen resultados positivos. Habitualmente, se observan acciones reactivas frente a un resultado desfavorable y lo recomendable es que exista una vigilancia activa de éste patógeno, promover estudios en el tema para tesis profesionales y con ello sustentar científicamente acciones al respecto, estudios desde la persistencia de *L. monocytogenes* en las instalaciones, identificación de cepas, nichos comunes, pruebas de resistencias de los productos químicos utilizados, estudios de sus procedimientos de higiene y sanitización, etc. Innumerables temas que estudiar y probar dentro de la industria salmonera. Por último, se debería fomentar el estudio con mayor enfoque hacia el futuro ya que *L. monocytogenes* cada vez está siendo más persistente, lo que pone en peligro la seguridad alimentaria.

De acuerdo con la Tabla 2, de los productos con resultados desfavorables, las presentaciones que necesitan proceso de corte en máquinas como la fileteadora y porcionadora, son productos que además tienen una presentación al vacío (envase de film plástico) y al tratarse de productos con más manipulación y proceso, se correlaciona

con lo que menciona el estudio de Aalto-Araneda *et al.* (2019), donde se encontraron deficiencias en las prácticas de saneamiento que se asociaron con un mayor riesgo de contaminación de los productos por *L. monocytogenes* como; la infrecuente limpieza periódica a fondo del entorno de procesamiento y la falta de limpieza periódica profunda de la máquina de vaciado. La insuficiente higiene a fondo periódica de las máquinas de la planta de producción de alimentos puede aumentar el riesgo de contaminación del producto por *L. monocytogenes*. Por ende, el saneamiento de las maquinarias de procesamiento es importante en la industria alimentaria y un diseño higiénico deficiente se percibe como un problema para varias máquinas de procesamiento. A raíz de estos antecedentes se puede inferir que, la contaminación de los productos podría asociarse a las máquinas, ya que los aseos profundos de estos equipos podrían ser deficientes asociado a su diseño, donde la materia orgánica es difícil de remover.

En el estudio de Aalto-Araneda *et al.* (2019), hubo varias asociaciones significativas entre las características operativas y la presencia de *L. monocytogenes* en los productos. La maquinaria de procesamiento (en particular las máquinas de corte y despielado) y las deficiencias en las prácticas de saneamiento e higiene se identificaron como factores de riesgo de contaminación por *L. monocytogenes* en los productos de pescado envasados al vacío. A raíz de esto, es relevante indicar que las últimas dos detecciones de *L. monocytogenes*, en producto de una planta indicada en la tabla 2, fue en producto de salmón salar en presentación de porciones y de acuerdo con la investigación realizada por la empresa de muestreos ambientales en las instalaciones, se obtuvo resultados

positivos en el piso bajo la porcionadora. Además, durante inspecciones que realiza el SERNAPESCA, se detectaron deficiencias en malas prácticas durante el proceso como: realizar enjuague con manguera paralelo a las líneas de filete y porcionadora en funcionamiento, una práctica que favorece la contaminación cruzada, detección de apozamientos en zona de empaque, zonas de pisos con quebraduras, no cumplimiento de mantenimiento preventiva de una máquina detectada con desprendimientos en su estructura (SERNAPESCA, 2023). Por otro lado, se evidenció en la gran mayoría de las plantas una alta contratación de personal nuevo en las épocas de alta temporada, lo que conlleva a una insuficiente capacitación del personal (Registros POS de plantas, 2022). Una queja frecuente por parte de las plantas fiscalizadas es el poco entendimiento y malas prácticas repetitivas por parte de los operarios, aún, realizando reiteradas capacitaciones. Por lo que se podría decir que existe un déficit cultural y/o educacional con respecto a las buenas prácticas de manufactura, en respetar reglas dentro un establecimiento elaborador de alimentos (SERNAPESCA, 2023).

Según los Procedimiento de Saneamiento Operacionales (POS), de las plantas fiscalizadas en Quellón, estos aseos profundos se hacen una vez al día y realizarían los cinco pasos de aseo recomendados. Sin embargo, aunque los registros de aseo preoperacional tengan desviaciones, de acuerdo a las recomendaciones mencionadas, si no hay una adecuada acción mecánica, la adherencia de las bacterias a las superficies de contacto con los alimentos y el desarrollo de biopelículas en ellas son potenciales

fuentes de contaminación de los productos terminados con bacterias patógenas y de deterioro (Bagge-Ravn *et al.*, 2003).

Con respecto al uso de los detergentes, las siete plantas incluyen detergentes alcalinos clorados y ácidos dentro de los aseos profundos diarios. Tres de las siete plantas usan detergente enzimático dentro de sus protocolos de aseo profundo, una de ellas sólo lo aplica los fines de semana. De acuerdo con el estudio de Mazaheri *et al.* (2022), que evaluó cuantitativamente la eficacia de los tratamientos ácidos, alcalino y alcalino clorado en el desprendimiento bacteriano de las biopelículas formadas por *L. monocytogenes* en superficies de acero inoxidable, la aplicación de los tratamientos convencionales como los detergentes alcalinos y ácidos para la eliminación de biopelículas reducen en gran medida las biopelículas maduras de *L. monocytogenes*, siendo el detergente alcalino clorado más eficaz, y, por tanto, una opción en términos de tratamientos convencionales. Sin embargo, la estructura formada en las superficies no se dispersó, permaneciendo las células en los mesones de acero inoxidable con las posibles consecuencias en términos de reparación celular para ser viables de nuevo y potencialmente volver a contaminar otras superficies industriales. Por el contrario, la aplicación de tratamientos enzimáticos tuvo los dos efectos, alta capacidad de desprendimiento y alta dispersión de la estructura, consolidándose, así como el tratamiento más eficaz. En base a este estudio, se puede inferir que la inclusión de detergentes enzimáticos podría reforzar la eficacia de los protocolos en las plantas.

Los tratamientos con mayor eficacia (es decir, mayor porcentaje de desprendimiento celular) fueron los tratamientos enzimáticos aplicados a 50°C y los tratamientos alcalinos - ácidos que ejercen un efecto similar, como demostraron no tener diferencias significativas ($P > 0,05$) obtenidas entre ellos (Colagiorgi *et al.*, 2016). En primer lugar, los detergentes convencionales utilizados en el estudio se clasificaron en dos diferentes grupos en función del pH de aplicación, encontrando así los detergentes ácidos y alcalinos. Los resultados derivados del estudio demostraron que tanto los tratamientos alcalinos como los ácidos son muy eficaces para desprender biopelículas maduras de *L. monocytogenes*. Los detergentes alcalinos actúan desnaturalizando las proteínas debido a la acción de los iones hidroxilo, saponifican las grasas y, a altas concentraciones pueden tener una acción bactericida (Lelieveld, 2013). En este caso, el desprendimiento de las células de la superficie tras la aplicación del tratamiento alcalino podría estar relacionado con el hecho de que las matrices extracelulares de las biopelículas de *L. monocytogenes* están compuestas principalmente por proteínas (Colagiorgi *et al.*, 2016) y, por tanto, el tratamiento estaría favoreciendo la desnaturalización de las proteínas y la disrupción de la matriz. Por otro lado, los detergentes ácidos actúan como desincrustantes, favoreciendo la eliminación de los depósitos minerales (Fagerlund *et al.*, 2020). En base a los estudios, se puede inferir que la temperatura de aplicación de detergentes es clave para su alta eficacia. Cabe mencionar que la gran mayoría de las plantas no tenían descrito en sus documentos de POS, las temperaturas de aplicación o enjuague de los productos utilizados para la higiene y sanitización. Hallazgos detectados en algunas plantas son que utilizan agua a temperatura ambiente y en otras se usa el

rango de la caldera (10 - 40°C), temperatura que no es controlada ni registrada durante los aseos rutinarios (POS, 2023). Por tanto, un factor importante detectado en este análisis de los POS de las plantas fiscalizadas en la comuna de Quellón, fue la no verificación de la temperatura de aplicación de los productos utilizados para la higiene y sanitización, ya que estudios de Gibson *et. al.* (1999), Goode *et.al.*(2013) y Simoes *et.al.*(2005) descubrieron que los agentes habituales de limpieza y desinfección no son capaces de eliminar ni las biopelículas de laboratorio ni las industriales sin aplicar una tensión de cizallamiento, temperaturas elevadas y/o un mayor tiempo de mantenimiento, y así, potenciar la eficacia de los detergentes químicos con los tratamientos enzimáticos podría ser una opción para optimizar los aseos, por lo que los tratamientos combinados podrían ser una buena opción a recomendar cuando además se apliquen protocolos de limpieza con los cinco pasos recomendados (Mazaheri *et al.*, 2022).

IV. CONCLUSIONES

1. De acuerdo a la revisión de los estudios los lugares más comunes de aislamiento de cepas de *Listeria* persistentes fueron los suelos, los desagües, las cintas transportadoras, máquinas cortadoras y superficies de mesas.

2. En base a las observaciones detectadas en las inspecciones realizadas por el SERNAPESCA comunal de Quellón en las plantas supervisadas, las frecuentes malas prácticas son la insuficiente capacitación de personal nuevo, persistencia de malas prácticas de contaminación cruzada y aseos deficientes. De acuerdo con el análisis de los autores revisados, los factores de riesgo durante el proceso de elaboración son la facilidad de limpieza de los equipos y la falta de zonificación higiénica; rutinas/protocolos de limpieza; materias primas o áreas de materia prima; el tipo de producto; la condensación por goteo y los sistemas de alta presión que facilitan la propagación de partículas.

3. Un hallazgo detectado en esta revisión de las plantas fue el no control ni registro de la temperatura con la que utilizan los productos destinados a la higiene. Una revisión formal de los hallazgos científicos por parte de las empresas podría justificar las decisiones al implementar intervenciones que mejoren la persistencia de *L. monocytogenes* y los protocolos de higiene actuales.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aalto-Araneda M, Lundén J, Markkula A, Hakola S, Korkeala H. Processing plant and machinery sanitation and hygiene practices associate with *Listeria monocytogenes* occurrence in ready-to-eat fish products. *Food Microbiol.* 2019 Sep;82: 455-464. doi: 10.1016/j.fm.2019.03.017. Epub 2019 Mar 20. PMID: 31027805.
2. Afari, G.K. and Hung, Y.-C. (2018), Detection and Verification of the Viable but Nonculturable (VBNC) State of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* Using Flow Cytometry and Standard Plating. *Journal of Food Science*, 83: 1913-1920. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14203>
3. Bagge-Ravn D., Kelna Gardshodn, Lone Gram, Birte Fønnesbech Vogel; Comparison of Sodium Hypochlorite-Based Foam and Peroxyacetic Acid-Based Fog Sanitizing Procedures in a Salmon Smokehouse: Survival of the General Microflora and *Listeria monocytogenes*. *J Food Prot* 1 April 2003; 66 (4): 592–598. doi: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.4.592>
4. Barría, C., Singer, R. S., Bueno, I., Estrada, E., Rivera, D., Ulloa, S., Fernández, J., Mardones, F. O., & Moreno-Switt, A. I. (2020). Tracing *Listeria monocytogenes* contamination in artisanal cheese to the processing environments in cheese producers in southern Chile. *Food Microbiology*, 90, 103499. Disponible en: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103499>
5. Bisbiroulas, P., Psylou, M., Iliopoulou, I., Diakogiannis, I., Berberi, A. and Mastronicolis, S. (2011), Adaptational changes in cellular phospholipids and fatty acid composition of the food pathogen *Listeria monocytogenes* as a stress response to disinfectant sanitizer benzalkonium chloride. *Letters in Applied Microbiology*, 52: 275-280. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2010.02995.x>
6. Blatter, S., Giezendanner, N., Stephan, R., & Zweifel, C. (2010). Phenotypic and molecular typing of *Listeria monocytogenes* isolated from the processing environment and products of a sandwich-producing plant. *Food Control*, 21(11), 1519-1523. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.04.025>
7. Bodie A.R., C. A. O'Bryan, E. G. Olson and S. C. Natural Antimicrobials for *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meats: Current Challenges and Future Prospects.

Ricke *Microorganisms* 2023 Vol. 11 Issue 5 Pages 1301. Accession Number: doi:10.3390/microorganisms11051301. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/5/1301>

8. Bodor, A., Bounedjoun, N., Vincze, G. E., Erdeiné Kis, Á., Laczi, K., Bende, G., Szilágyi, Á., Kovács, T., Perei, K., & Rákhely, G. (2020). Challenges of unculturable bacteria: environmental perspectives. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19(1), 1-22. <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09522-4>

9. Brauge, T., Faille, C., Leleu, G., Denis, C., Hanin, A., & Midelet, G. (2020). Treatment with disinfectants may induce an increase in viable but non culturable populations of *Listeria monocytogenes* in biofilms formed in smoked salmon processing environments. *Food Microbiology*, 92, 103548. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103548>

10. Colagiorgi, A., Di Ciccio, P., Zanardi, E., Ghidini, S., & Ianieri, A. (2016). A Look inside the *Listeria monocytogenes* Biofilms Extracellular Matrix. *Microorganisms*, 4(3), 22. <https://www.mdpi.com/2076-2607/4/3/22>

11. Dalmasso, M., & Jordan, K. (2013). Process environment sampling can help to reduce the occurrence of " *Listeria monocytogenes*" in food processing facilities. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 93-100.

12. Dauphin, G., Ragimbeau, C., & Malle, P. (2001). Use of PFGE typing for tracing contamination with *Listeria monocytogenes* in three cold-smoked salmon processing plants. *International Journal of Food Microbiology*, 64(1), 51-61. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(00\)00442-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00442-6)

13. Desai, AN, Anyoha, A., Madoff, LC y Lassmann, B. Epidemiología cambiante de los brotes de *Listeria monocytogenes* , casos esporádicos y retiros a nivel mundial: una revisión de los informes de ProMED de 1996 a 2018. *Int. J. infectar. Dis.* 84 , 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.04.021> (2019).

13. Di Ciccio, P., Meloni, D., Festino, A. R., Conter, M., Zanardi, E., Ghidini, S., Vergara, A., Mazzette, R., & Ianieri, A. (2012). Longitudinal study on the sources of *Listeria monocytogenes* contamination in cold-smoked salmon and its processing environment

- in Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 158(1), 79-84.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.06.016>
15. Donovan, S. (2015). Listeriosis: a Rare but Deadly Disease. *Clinical Microbiology Newsletter*, 37(17), 135-140.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2015.08.001>

 16. Duze, S. T., Marimani, M., & Patel, M. (2021). Tolerance of *Listeria monocytogenes* to biocides used in food processing environments. *Food Microbiology*, 97, 103758.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103758>

 17. Elżbieta Maćkiw, Monika Stasiak, Joanna Kowalska, Katarzyna Kucharek, Dorota Korsak, Jacek Postupolski; Occurrence and Characteristics of *Listeria monocytogenes* in Ready-to-Eat Meat Products in Poland. *J Food Prot* 1 June 2020; 83 (6): 1002–1009. doi: <https://doi.org/10.4315/JFP-19-525>

 18. Fagerlund, A., Heir, E., Møretrø, T., & Langsrud, S. (2020). Listeria Monocytogenes Biofilm Removal Using Different Commercial Cleaning Agents. *Molecules*, 25(4), 792.
<https://www.mdpi.com/1420-3049/25/4/792>

 19. FSAI (2005). Food Safety Authority Ireland (FSAI). *The Control and Management of Listeria monocytogenes Contamination of Food* [Informe] (ISBN 1-904465-29-3).
<https://www.lenus.ie/handle/10147/44799>

 20. Food Safety News (FSN), 2021. *Listeria* infections prompt warning in Chile. Disponible en:
https://www.foodsafetynews.com/2021/09/listeria-infections-prompt-warninginchile/?utm_source=Food+Safety+News&utm_campaign=eaa72a2d94-RSS_EMAIL_CAMPAIGN&utm_medium=email&utm_term=0_f46cc10150-eaa72a2d94-40153319

 21. Gibson H, Taylor JH, Hall KE, Holah JT. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. *J Appl Microbiol*. 1999 Jul;87(1):41-8. doi: 10.1046/j.1365-2672.1999.00790.x. PMID: 10432586.

 22. González-Rivas, F., Ripolles-Avila, C., Fontecha-Umaña, F., Ríos-Castillo, A.G. and Rodríguez-Jerez, J.J. (2018), Biofilms in the Spotlight: Detection, Quantification, and

Removal Methods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17: 1261-1276. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12378>

23. Goode, K.R., Asteriadou, K., Robbins, P.T. and Fryer, P.J. (2013), Fouling and Cleaning Studies in the Food and Beverage Industry Classified by Cleaning Type. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12: 121-143. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12000>
24. Gray JA, Chandry PS, Kaur M, Kocharunchitt C, Bowman JP and Fox EM (2018) Novel Biocontrol Methods for *Listeria monocytogenes* Biofilms in Food Production Facilities. *Front. Microbiol.* 9:605. doi: 10.3389/fmicb.2018.00605
25. Gray, J., Chandry, P. S., Kaur, M., Kocharunchitt, C., Fanning, S., Bowman, J. P., & Fox, E. M. (2021). Colonization dynamics of *Listeria monocytogenes* strains isolated from food production environments. *Scientific Reports*, 11(1), 12195. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91503-w>
26. Klæboe, H., Rosef, O., Fortes, E., & Wiedmann, M. (2006). Ribotype diversity of *Listeria monocytogenes* isolates from two salmon processing plants in Norway. *International Journal of Environmental Health Research*, 16(5), 375-383. <https://doi.org/10.1080/09603120600869406>
27. Laksanalamai P, Huang B, Sabo J, Burall LS, Zhao S, *et al.* (2014) Genomic Characterization of Novel *Listeria monocytogenes* Serotype 4b Variant Strains. *PLOS ONE* 9(2): e89024. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089024>
28. Lelieveld, H. L. M. (2013). Introduction. In H. L. M. Lelieveld, J. T. Holah, & D. Napper (Eds.), *Hygiene in Food Processing (Second Edition)* (pp. xxvii-xxviii). Woodhead Publishing. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-85709-429-2.50022-X>
29. McEntire, J. (2018). Guidance on environmental monitoring and control of *Listeria* for the fresh produce industry. <https://www.freshproduce.com/siteassets/files/reports/food-safety/guidance-on-environmental-monitoring-and-control-of-listeria.pdf>

30. Ministerio de Salud de Chile (MINSAL). (2009). Orientaciones para el control y prevención de *Listeria monocytogenes* en alimentos Listos Para Consumo (LPC). https://www.minsal.cl/wpcontent/uploads/2015/10/Circular_35_2009_Listeria_monocytogenes.pdf
31. Ministerio de Salud de Chile (MINSAL). (2019). Decreto Supremo N° 7 del 2019 que aprueba el reglamento sobre notificación de enfermedades transmisibles de declaración obligatoria y su vigilancia. Disponible en: http://epi.minsal.cl/wp-content/uploads/2020/07/Decreto_7_12_de_marzo_de_2019.pdf
32. Munn CB (2020) Marine microbiology: ecology and application, 3rd ed. CRC Press, Boca Ratón, p 95
33. Noll, M., Trunzer, K., Vondran, A., Vincze, S., Dieckmann, R., Al Dahouk, S., & Gold, C. (2020). Benzalkonium Chloride Induces a VBNC State in *Listeria monocytogenes*. *Microorganisms*, 8(2), 184. <https://www.mdpi.com/2076-2607/8/2/184>
34. NSW Goberment. Food Authority. (2019). Controlling *Listeria monocytogenes* food processing. Revisado en línea: https://www.foodauthority.nsw.gov.au/sites/default/files/2020-01/controlling_listeria_monocytogenes_food_processing.pdf
35. OMS, (2018). Organización Mundial de la Salud. Notas descriptivas: listeriosis. Revisado en línea: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>
36. SERNAPESCA, 2023. Manual de inocuidad y certificación: parte II:sección normas y procedimientos;sección III: Control de Exportación y Certificación. Disponible en: http://www.sernapesca.cl/sites/default/files/parte_ii_seccion_iii_control_de_exportacion_y_certificacion_v20231113.pdf
37. Sibanda, T., & Buys, E. M. (2022). *Listeria monocytogenes* Pathogenesis: The Role of Stress Adaptation. *Microorganisms*, 10(8), 1522. <https://www.mdpi.com/2076-2607/10/8/1522>
38. Simoes, M., Pereira, M. O., & Vieira, M. J. (2005). Effect of mechanical stress on biofilms challenged by different chemicals. *Water Research*, 39(20), 5142-5152.

39. Stessl, B., Szakmary-Brändle, K., Vorberg, U., Schoder, D., & Wagner, M. (2020). Temporal analysis of the *Listeria monocytogenes* population structure in floor drains during reconstruction and expansion of a meat processing plant. *International Journal of Food Microbiology*, 314, 108360. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108360>
40. Subsecretaría de Salud Pública. (31 de Agosto 2009). Circular N°A15/35. Orientaciones para el Control y Prevención de *Listeria monocytogenes* en alimentos Listos Para Consumo (LPC). https://www.minsal.cl/wp-content/uploads/2015/10/Circular_35_2009_Listeria_monocytogenes.pdf
41. U.S. Food and Drugs Administration. 2011. Fish and fishery products hazards and controls guidance. Apéndice 4. Disponible en: <http://www.fda.gov/food/seafood-guidance-documents-regulatoryinformation/fish-and-fishery-products-hazards-and-controls-guidance-4th-edition>
42. U.S. Food and Drugs Administration. 2017. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Control of *Listeria monocytogenes* in Ready-To-Eat Foods: Guidance for Industry Draft Guidance. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/102633/download>