

## Retos de interés creciente en Seguridad Alimentaria

Carlos Alonso Calleja y Rosa Capita González

 [carlos.alonso.calleja@unileon.es](mailto:carlos.alonso.calleja@unileon.es)  
[rosa.capita@unileon.es](mailto:rosa.capita@unileon.es)

Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Universidad de León. Campus de Vegazana, s/n, 24071-León



Algunos miembros del Grupo de Investigación SEGURALI (de izquierda a derecha): detrás, Laura Buzón, Alicia Alonso, Amanda Felices y María González; delante, Cristina Rodríguez, Diana Molina, Rosa Capita y Carlos Alonso.

En esta reseña se abordarán las principales actividades llevadas a cabo en los últimos años por el Grupo de Investigación en Seguridad Alimentaria, Alimentación e Higiene de los Alimentos de la Universidad de León (SEGURALI), que tiene su sede en el Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos (Área de Nutrición y Bromatología) y en el Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTAL) de la citada Universidad.

La contribución de la Industria Alimentaria al incremento de la resistencia a antibióticos ha adquirido un gran protagonismo en la última década y actualmente existe una preocupación creciente en relación con la transmisión de bacterias resistentes a través de las diferentes etapas de producción de alimentos (Capita, 2013; Capita y Alonso-Calleja, 2013). Una de las líneas de investigación de nuestro Grupo consiste en la **caracterización fenotípica y genotípica de la resistencia a antibióticos a lo largo de la cadena alimentaria** y el estudio del efecto de diferentes factores sobre la prevalencia de dicha resistencia, especialmente en *Salmonella*

*enterica*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Enterococcus* spp. (incluyendo *vancomycin-resistant enterococci*, VRE) (Alonso-Hernando *et al.*, 2012a; Álvarez-Fernández *et al.*, 2012a, b, 2013; Guerrero-Ramos *et al.*, 2016a, b). Sobre estas temáticas se han realizado cuatro Tesis Doctorales en los últimos cinco años, dos de las cuales (Dras. Elena Álvarez y Emilia Guerrero) han sido ya defendidas y otras dos (Diana Molina y Laura Buzón) están actualmente en fase de redacción de la Memoria. En estos trabajos se ha puesto de manifiesto que el empleo repetitivo de algunos biocidas (p. ej. hipoclorito sódico) a concentraciones subletales podría asociarse, en determinadas circunstancias, con un incremento de la resistencia a antibióticos (Capita *et al.*, 2014; Molina-González *et al.*, 2014), hecho relacionado con modificaciones ultraestructurales de las células bacterianas y con una expresión incrementada de bombas de expulsión inespecíficas (Capita *et al.*, 2014; Alonso-Calleja *et al.*, 2015).

Otra línea de investigación, que venimos desarrollando desde hace más de dos dé-

cadadas, está en relación con los compuestos **descontaminantes de la carne**. Los trabajos realizados en los últimos años han dado como resultado tres Tesis Doctorales (Dres. Elena del Río, José Alfredo Guevara y Alicia Alonso), dos de las cuales han recibido el Premio Extraordinario de Doctorado. Nos hemos centrado en el estudio de cinco tipos de descontaminantes: fosfato trisódico, clorito sódico acidificado, ácidos orgánicos (ascórbico, cítrico y láctico), dióxido de cloro y peroxiácidos. Los estudios realizados han puesto de manifiesto la relación entre el empleo de ciertos descontaminantes a concentraciones subletales y un descenso en la susceptibilidad bacteriana a dichos compuestos y a determinados antibióticos, así como un aumento de la resistencia al estrés ácido en algunos casos. Se ha demostrado que los tratamientos descontaminantes pueden incrementar el porcentaje de células bacterianas resistentes a antibióticos en la superficie de la carne, hecho que sugiere una relación directa entre la susceptibilidad de las bacterias a ambos tipos de antimicrobianos (Capita *et al.*, 2013). Asimismo, se ha comprobado que algunos de

estos tratamientos podrían reducir la fase de latencia e incrementar el ritmo de crecimiento bacteriano, a la vez que provocar una selección de los microorganismos patógenos más resistentes, por ejemplo *L. monocytogenes* (Alonso-Hernando *et al.*, 2012b, 2013a). Estos hallazgos tienen importantes implicaciones para la Seguridad Alimentaria y plantean dudas sobre la inocuidad de los tratamientos descontaminantes de la carne.

Además de los potenciales riesgos bióticos para el consumidor, hemos estudiado algunos factores que afectan a la eficacia antimicrobiana de los tratamientos de descontaminación, incluyendo el tipo de compuesto, la temperatura de aplicación o las condiciones de almacenamiento de la carne. Hemos comprobado que, en general, las menores reducciones microbianas se observan cuando los tratamientos descontaminantes se realizan a temperaturas de refrigeración. Por otro lado, se ha puesto de manifiesto que la mayor efectividad antimicrobiana frente a bacterias patógenas y alterantes corresponde a los ácidos orgánicos, el fosfato trisódico y el clorito sódico acidificado, siendo este último compuesto el que presenta un mejor comportamiento durante el almacenamiento de la carne en caso de que ocurra una rotura de la cadena de frío (Alonso-Hernando *et al.*, 2013b, c, d, 2015).

El desarrollo de las líneas de investigación mencionadas nos ha permitido, además, estudiar la **calidad higiénico-sanitaria de diferentes alimentos de origen animal**, principalmente carne y productos cárnicos, tanto en mataderos como en industrias de transformación y en establecimientos de venta al público, a la vez que evaluar el grado de cumplimiento de la normativa (p. ej. criterios microbiológicos) (Alonso-Calleja *et al.*, 2017). En este contexto está realizando su Tesis Doctoral María González y se han defendido varios trabajos Fin de Carrera, Fin de Grado y Fin de Máster.

Una última línea de investigación está relacionada con el estudio de diferentes factores que afectan a la **capacidad de *L. monocytogenes* para formar *biofilm***, trabajo en el que están participando dos investigadoras de reciente incorporación (Cristina Rodríguez

y Amanda Felices) y que se encuadra en un Proyecto de Investigación que estamos desarrollando en colaboración con investigadores del INIA y de la Universidad Autónoma de Barcelona. Estos trabajos tienen como finalidad principal determinar el efecto de diferentes tipos y concentraciones de desinfectantes de uso habitual en la Industria Alimentaria sobre la capacidad de las bacterias para formar *biofilm*. Para la estimación de los parámetros estructurales de las biopelículas nuestro Grupo ha desarrollado una aplicación informática (BioRCA 1.4) que permite analizar por separado las células vivas no dañadas, dañadas subletalmente e inactivadas, hecho de gran interés dadas las diferentes implicaciones que estos grupos de bacterias tienen en el ámbito de la Salud Pública. Los resultados preliminares apuntan a que en ciertas condiciones algunos biocidas pueden incrementar la capacidad de *L. monocytogenes* para formar *biofilm*. La confirmación de estos hallazgos y el esclarecimiento de los mecanismos moleculares implicados son nuestros objetivos más inmediatos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alonso-Calleja C, Guerrero-Ramos E, Alonso-Hernando A y Capita R. (2015). Adaptation and cross-adaptation of *Escherichia coli* ATCC 12806 to several food-grade biocides. *Food Control* 56: 86-94.
- Alonso-Calleja C, Guerrero-Ramos E y Capita R. (2017). Hygienic status assessment of two lamb slaughterhouses in Spain. *J Food Prot.* En prensa.
- Alonso-Hernando A, Prieto M, García-Fernández C, Alonso-Calleja C y Capita R. (2012a). Increase over time in the prevalence of multiple antibiotic resistance among isolates of *Listeria monocytogenes* from poultry in Spain. *Food Control* 23: 37-41.
- Alonso-Hernando A, Capita R y Alonso-Calleja C. (2012b). Behaviour of co-inoculated pathogenic and spoilage bacteria on poultry following several decontamination treatments. *Int J Food Microbiol* 159: 152-159.
- Alonso-Hernando A, Alonso-Calleja C y Capita R. (2013a). Growth kinetic parameters of Gram-positive and Gram-negative bacteria on poultry treated with various chemical decontaminants. *Food Control* 33: 429-432.
- Alonso-Hernando A, Alonso-Calleja C y Capita R. (2013b). Effectiveness of several chemical decontamination treatments against Gram-negative bacteria on poultry during storage under different simulated cold chain disruptions. *Food Control* 34: 574-580.
- Alonso-Hernando A, Capita R y Alonso-Calleja C. (2013c). Decontamination treatments for psychrotrophic microorganisms on chicken meat during storage at different temperatures. *J Food Prot* 76: 1977-1980.
- Alonso-Hernando A, Guevara-Franco JA, Alonso-Calleja C y Capita R. (2013d). Effect of the temperature of the dipping solution on the antimicrobial effectiveness of various chemical decontaminants against pathogenic and spoilage bacteria on poultry. *J Food Prot* 76: 833-842.
- Alonso-Hernando A, Alonso-Calleja C y Capita R. (2015). Effect of various decontamination treatments against Gram-positive bacteria on chicken stored under differing conditions of temperature abuse. *Food Control* 47: 71-76.
- Álvarez-Fernández E, Domínguez-Rodríguez J, Capita R y Alonso-Calleja C. (2012a). Influence of housing systems on microbial load and antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolates from eggs produced for human consumption. *J Food Prot* 75: 847-853.
- Álvarez-Fernández E, Alonso-Calleja C, García-Fernández C y Capita R. (2012b). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* serotypes isolated from poultry in Spain: comparison between 1993 and 2006. *Int J Food Microbiol* 153: 281-287.
- Álvarez-Fernández E, Cancelo A, Díaz-Vega C, Capita R y Alonso-Calleja C. (2013). Antimicrobial resistance in *E. coli* isolates from conventionally and organically reared poultry: a comparison of agar disc diffusion and Sensi Test Gram-negative methods. *Food Control* 30: 227-234.
- Capita R. (2013). Papel de la Industria Alimentaria en el control de la resistencia bacteriana a los antibióticos. Universidad de León (Área de Publicaciones), León. ISBN 978-84-9773-655-8; DL LE 1073-2013.
- Capita R y Alonso-Calleja C. (2013). Antibiotic-resistant bacteria: a challenge for the food industry. *Crit Rev Food Sci Nutr* 53: 11-48.
- Capita R, Álvarez-Fernández E, Fernández-Buelta E, Manteca J y Alonso-Calleja C. (2013). Decontamination treatments can increase the prevalence of resistance to antibiotics of *Escherichia coli* naturally present on poultry. *Food Microbiol* 34: 112-117.
- Capita R, Riesco-Peláez F, Alonso-Hernando A y Alonso-Calleja C. (2014). Exposure of *Escherichia coli* ATCC 12806 to sublethal concentrations of food-grade biocides influences its ability to form biofilm, resistance to antimicrobials, and ultrastructure. *Appl Environ Microbiol* 80: 1268-1280.
- Guerrero-Ramos E, Cordero J, Molina-González D, Poeta P, Iglesias G, Alonso-Calleja C y Capita R. (2016a). Antimicrobial resistance and virulence genes in enterococci from wild game meat in Spain. *Food Microbiol* 53: 156-164.
- Guerrero-Ramos E, Molina-González D, Blanco-Morán S, Iglesias G, Poeta P, Alonso-Calleja C y Capita R. (2016b). Prevalence, antimicrobial resistance, and genotypic characterization of vancomycin-resistant enterococci in meat preparations. *J Food Prot* 79: 748-756.
- Molina-González D, Alonso-Calleja C, Alonso-Hernando A y Capita R. (2014). Effect of sub-lethal concentrations of biocides on the susceptibility to antibiotics of multi-drug resistant *Salmonella enterica* strains. *Food Control* 40: 329-334.