

(S7-P117)

EFECTIVIDAD DE DESINFECTANTES DE SUPERFICIES DE LOS EQUIPOS EN INSTALACIONES DE ENVASADO DE PRODUCTOS LISTOS PARA SU CONSUMO.

A. TABOADA⁽¹⁾, E. SANCHEZ⁽¹⁾, R. CAVA⁽¹⁾, F. MARIN⁽¹⁾, A. LOPEZ⁽²⁾

⁽¹⁾Depto. de Tecnología de Alimentos, Universidad de Murcia,
Campus de Espinardo, Murcia

⁽²⁾Depto. de Ingeniería de Alimentos, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII, 48
Cartagena
antonio.lopez@upct.es

Palabras clave: desinfectantes – CMI – CMB

RESUMEN

Una de las principales fuentes de contaminación de los alimentos envasados listos para su consumo son las superficies de los equipos en contacto con los alimentos. En dichas superficies se desarrollan biofilms que con frecuencia son muy resistentes a los agentes desinfectantes utilizados en las plantas de fabricación. En este trabajo se han aislado diferentes microorganismos de biofilms en superficies de equipos, y se han estudiado frente a desinfectantes comerciales utilizados en diversas industrias alimentarias, en un equipo multiskan ascent y placas microtiter. Se estudiaron tres cepas bacterianas que pueden ser encontradas en las superficies de los equipos: *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*. Los desinfectantes ensayados han sido quacide p40, dectocide yo2, dexacide b10, divosan activ, quacide mc7, limoseat, aseps 150 y destocide. Respecto a las determinaciones de concentración mínima inhibitoria (cmi) los desinfectantes más efectivos resultaron ser quacide mc7, que a una concentración de 0.125 % v/v inhibió el crecimiento de todas las cepas diana y aseps 150 que produjo el mismo efecto a una concentración de 0,06%. La definición de concentración mínima bactericida (cmb) se estableció como el valor de concentración del desinfectante que destruye una población de 10^4 cel./ml durante 20 min. Las cmb más bajas se obtuvieron con dexacide b10 con cmb = 0,125% para todas las cepas estudiadas y quacide mc7 con cmb = 0,0625% para *L. Monocytogenes* y *e. Coli* y de cmb = 0,125% para *Pseudomonas sp.* Como conclusión se recomienda utilizar una alternancia de desinfectantes dependiendo del tipo de cepa predominante que contamine la superficie de los equipos.

ABSTRACT

The main contamination sources of packaged ready to eat products are equipment surfaces which keep in touch with them during the production process. Microbial biofilms are developed on these surfaces and frequently they are resistant to common disinfectants used in the food industry. Different spoilage microorganisms which usually are found on equipment surfaces biofilms have been tested in the present work. Their resistance against commercial disinfectants was studied in a Multiskan Ascent spectrophotometer and microtiter plates (96 wells). Three strains isolated from the equipment surfaces were tested: *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes*. Disinfectants were Quacide P40, Dectocide YO2, Dexacide B10, Divisan activ, Quacide MC7, Limoseat, Aseps 150 y Destocide. The minimal inhibitory concentration (MIC) and the minimal bactericidal concentration (MBC) were

determined for each strain. The most effective disinfectants regarding the MIC values were Quacide MC7 and Asep 150 which inhibited the growing of the target strains at concentrations of 0,125 and 0,06 % v/v respectively. The MBC was defined as the minimal concentration at which the strain population of 10^4 cell/ml was killed during 20 minutes of interaction between the strain and each disinfectant. The lowest values of MBC were 0,125 % v/v with Dexacide B10 for all the target strains and 0,0625 % v/v with Quacide MC7 for *L. monocytogenes* and *E.coli* and 0,125 % v/v for *Pseudomonas sp.* As conclusion we recommend the use of a disinfection plan in relation to the predominant spoiling microflora and the potential risk that represents for the food product. This plan would include several disinfectants changing them each few days.

INTRODUCCIÓN

Una de las principales fuentes de contaminación de los alimentos envasados listos para su consumo son las superficies de los equipos en contacto con los alimentos. En dichas superficies se desarrollan biofilms que con frecuencia son muy resistentes a los agentes desinfectantes utilizados en las plantas de fabricación.

Los compuestos de amonio cuaternario son habitualmente utilizados como desinfectantes en medicina humana, en ganadería y en la industria alimentaria, lo que unido a su baja toxicidad y su excelente eficacia frente a gérmenes Gram-positivos principalmente, hace que la cuota en el mercado de estos agentes sea elevada dentro de los desinfectantes empleados, ya que utilizados en soluciones acuosas o mezclados con detergentes, pueden combinar la limpieza y desinfección en una sola aplicación (Kahrs, 1995). Su modo de acción consiste en unirse de una forma irreversible a los fosfolípidos y proteínas de la membrana, dañando su permeabilidad (Maris, 1995).

Los desinfectantes comerciales objeto de estudio en el presente trabajo fueron Quacide P40, Dexacide B10, Quacide MC7, Limoseat, Asep 150, Destocide Divosan Activ y Dectocide YO2 (estos dos últimos a base de ácido peracético y yodo tensioactivo respectivamente). Su efectividad fue comprobada con respecto a la resistencia de cepas testigo aisladas de las superficies de equipos en la industria alimentaria.

Este estudio aporta información en cuanto a la relación de CMB y CMI de las cepas diana ensayadas en el estudio que son representantes de las principales cepas contaminantes y alterantes encontradas en biofilms de numerosas empresas alimentarias. El aspecto mas importante que se ha de tener en cuenta en la valoración de desinfectantes, es comprobar que a las dosis comerciales recomendadas por el fabricante (dosis variables en función de la riqueza de desinfectante en la dilución comercial), el producto es efectivo, pues se podría sobrepasar un límite, en ocasiones no muy bien definido, y producir una toxicidad no deseada en el alimento o, por el contrario, no alcanzar la concentración adecuada para conseguir una desinfección eficiente de las superficies en contacto con el producto.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Cepas diana y condiciones de cultivo

Las cepas de microorganismos patógenos fueron:

Listeria monocytogenes, Scott A (Food and Drug Administration, EEUU).

Listeria monocytogenes, LM 82 (Food and Drug Administration, EEUU).

Listeria monocytogenes, NCTC 11994 (National Collection of Type Cultures, RU).

Se obtuvieron cultivos puros por siembra en medio de cultivo en placas Petri por agotamiento e inoculación a partir de una colonia aislada en caldo de soja triptona (TSB). El medio utilizado fue Agar Selectivo para Palcam-Listeria (base) y el suplemento selectivo para Palcam-Listeria de Merck, Darmstadt, Germany.

Se prepararon cultivos puros utilizando la misma metodología de las cepas:

E. coli, serotipo O157:H7 12900

E. coli, serotipo O157:H7 5297 (cedidas por la Universidad de Gante, Bélgica).

El medio utilizado fue el Agar Mac Conkey Sorbitol O157:H7 de Laboratorios Microkit, Madrid, España.

Pseudomonas sp. aislada de un queso fresco.

El medio utilizado fue el Cetrimida Agar (base) de Biokar Diagnostics, Barcelona, España.

2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y de la concentración mínima bactericida (CMB)

El estudio de la eficacia de los desinfectantes se basó en las determinaciones de sus concentraciones mínimas inhibitorias y mínimas bactericidas para cada una de las cepas testigo que utilizamos en este trabajo.

La definición de CMI se estableció como el valor de concentración del desinfectante que impide el crecimiento de una población de 10^4 células/ml durante 24 horas. La definición de CMB se estableció como el valor de concentración del desinfectante que destruye una población de 10^4 células/ml en un tiempo de 20 min.

Se determinó la CMI de los desinfectantes utilizados actualmente en la fábrica en un lector de microplacas con agitación e incubación Multiskan Ascent mediante la medición de la absorbancia. En microplacas (96 pocillos) se añadió TSB y distintas concentraciones de los desinfectantes (entre 0 (control) y 1% v/v) por diluciones seriadas de $\frac{1}{2}$.

Las CMB se determinaron en medio TSB, utilizando la misma metodología de diluciones seriadas de $\frac{1}{2}$ para probar los diferentes valores de concentraciones de desinfectantes y por siembra en superficie en placas Petri con medio TSA al cabo de 20 minutos de estar en contacto el desinfectante en cuestión con la población de la cepa testigo (Rueda et al., 2001).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de las CMI y CMB se muestran en las Tablas 1 y 2.

TABLA 1. CMI expresada en % V/V de cada desinfectante para cada uno de los microorganismos patógenos y alterantes estudiados.

CMI (%v/v)	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Pseudomonas sp.</i>
Quacide P40	0,016	0,03	0,5
Dectocide YO2	0,0625	0,004	0,5
Dexacide B10	0,004	0,004	0,25
Divosan activ	0,057	0,03	0,5
Quacide MC7	0,002	0,016	0,125
Limoseat	0,016	0,03	0,25
Asep 150	0,03	0,016	0,06

Destocide	0,03	0,6	0,5
-----------	------	-----	-----

Tabla 2. Concentración mínima bactericida (CMB) expresada en % V/V de cada desinfectante para cada uno de los microorganismos patógenos y alterantes estudiados.

CMB (%v/v)	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Pseudomonas sp.</i>
Quacide P40	1,0	1,0	1,0
Dectocide YO2	4,0	4,0	2,0
Dexacide B10	0,125	0,125	0,125
Divosan activ	2,0	1,0	2,0
Quacide MC7	0,0625	0,0625	0,125
Limoseat	0,125	0,125	0,5
Asep 150	1,0	0,5	0,5
Destocide	1,0	2,0	4,0

Respecto a las determinaciones de concentración mínima inhibitoria (CMI) (Figura 1), los desinfectantes más efectivos resultaron ser Quacide MC7, que a una concentración de 0,125 % v/v inhibió el crecimiento de todas las cepas diana y Asep 150 que produjo el mismo efecto a una concentración de 0,06%. Las CMB (Figura 2) más bajas se obtuvieron con Dexacide B10 con CMB = 0,125% para todas las cepas estudiadas y Quacide MC7 con CMB = 0,0625% para *L. monocytogenes* y *E. coli* y de CMB = 0,125% para *Pseudomonas sp.* Este último desinfectante mencionado es un compuesto de amonio cuaternario, el cual ha sido reportado como desinfectante muy efectivo, y más aún frente a bacterias Gram-positivas como se corrobora en este estudio.

Cuando un desinfectante tuvo el menor valor de CMI para una especie bacteriana determinada, no en todos los casos trajo como consecuencia que su valor de CMB también fuese el menor y por consiguiente el más eficiente.

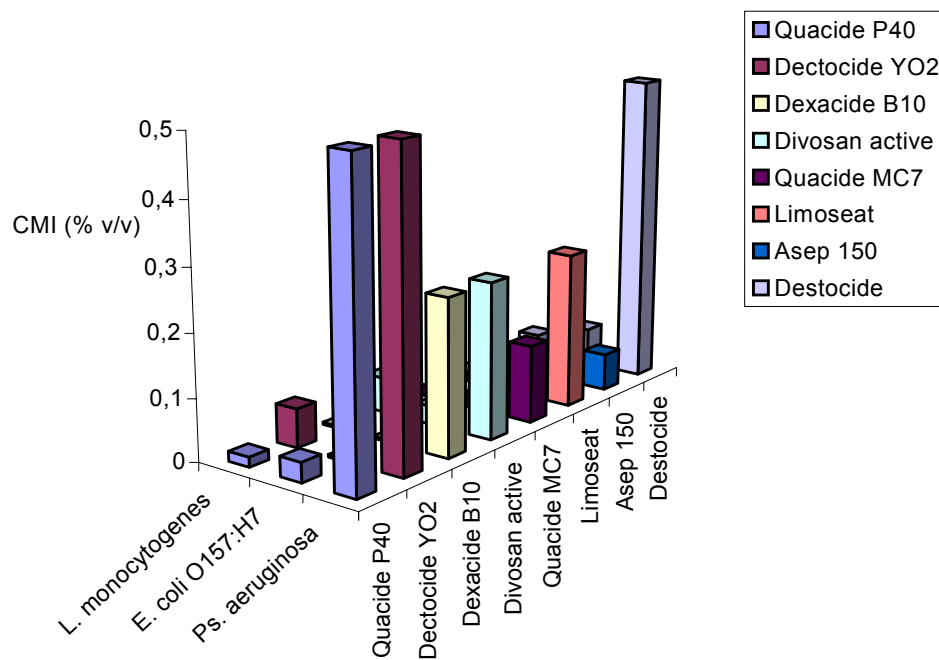
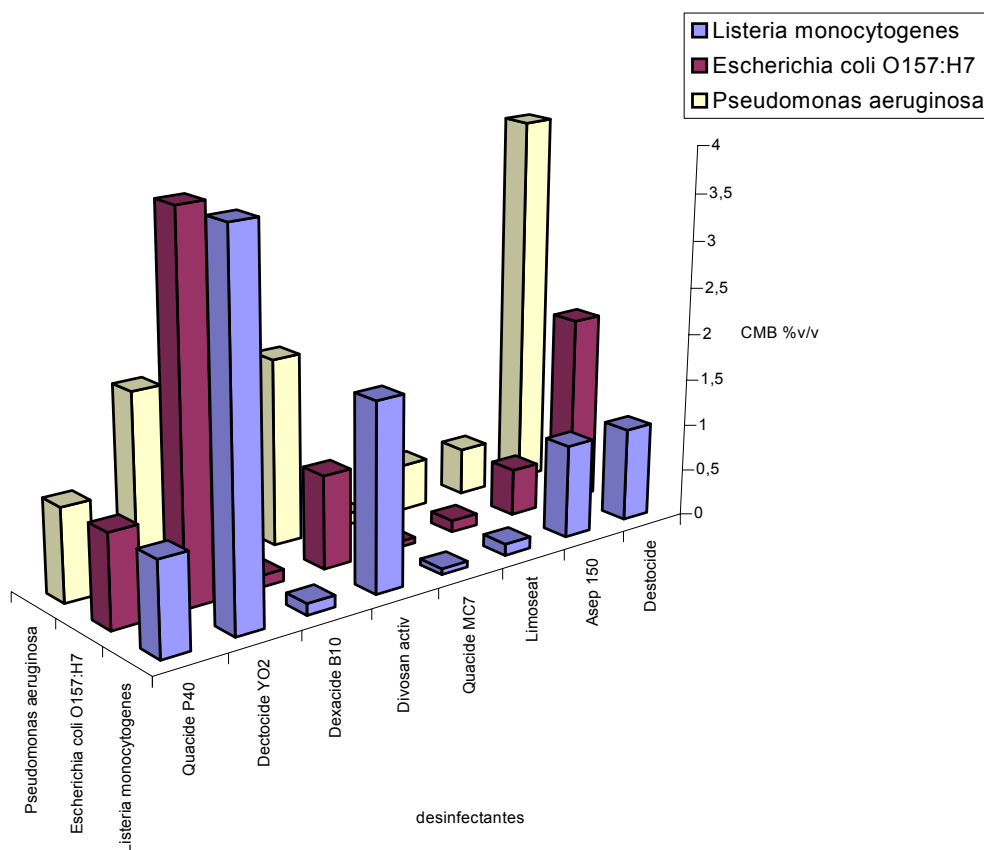


Figura 1. Concentración mínima inhibitoria (CMI) de cada desinfectante para cada uno de las cepas diana estudiadas.

**Figura 2.**

Concentración mínima bactericida (CMB) de cada desinfectante para cada uno de las cepas diana estudiadas.

CONCLUSIONES

Como conclusión, se recomienda el estudio previo de la microflora que se encuentra en la superficie de los equipos o maquinaria que se quiere limpiar. En caso de que aparezcan especies que representen un riesgo potencial en el producto que se va a fabricar, se ha de realizar un estudio de los desinfectantes disponibles tomando como punto de referencia las concentraciones mínimas bactericidas. En caso de que el riesgo involucre varias especies bacterianas, se puede plantear una alternancia de diferentes desinfectantes con el objetivo de conseguir una mayor efectividad de la limpieza y desinfección de las superficies.

BIBLIOGRAFÍA

- Donlan RM. 2002. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8 (9), 881-890.
- Kahrs RF. 1995. Principios generales de la desinfección. *In: Desinfectantes: acciones y aplicaciones. Segunda parte* (H.A. McDaniel, edit.). *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (2), 143-163.
- Maris P. 1995. Modes of action of disinfectants. *In: Desinfectantes: acciones y aplicaciones. Primera parte* (H.A. McDaniel, edit.). *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 14 (1), 47-55.
- Rueda J., Amigot JA. y Duchá J. 2001. Evaluación de desinfectantes de amonio cuaternario sobre cepas bacterianas de origen animal. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 22 (3), 1097-1104.