



ADHERENCIA BACTERIANA A MATERIALES DE RECUBRIMIENTO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Pombar, A, Gallardo, C.S., and Rodríguez, L.A

Area de Microbiología, Facultad de Ciencias, Campus de Ourense.

As Lagoas 32004 Ourense

labmicrobiologia@uvigo.es

INTRODUCCION

La contaminación de los alimentos es un grave problema para la industria alimentaria, debido a que da lugar a la aparición de productos inaceptables para el consumo humano. El almacenaje de alimentos es una práctica se desarrolla a gran escala, razón por la cual las consecuencias de pérdidas por contaminación en esta fase de producción, podrían ser elevadas y altamente costosas. Este fenómeno generalmente es un proceso mixto, en el que participan bacterias, levaduras y hongos filamentosos presentes en el propio ambiente, materia prima, u operarios; y un proceso competitivo, en el cual prevalecen aquellos grupos que muestran la mayor adaptación a las condiciones de almacenamiento, que se manifiestan en el producto en particular. Comparando hongos filamentosos y bacterias frente a las levaduras, éstas juegan un papel secundario en la alteración de los alimentos.

Para que los microorganismos puedan proliferar en las cámaras de refrigeración y salas de trabajo, deben en primer lugar poder adherirse a sus superficies.

La aparición de superficies poco susceptibles a la adherencia bacteriana, reduciría en gran medida los problemas de contaminación.

La existencia de cargas negativas libres, en los materiales de construcción de las superficies, generaría un efecto antagónico de cargas frente a un elevado porcentaje de bacterias involucradas en estas contaminaciones, las gram negativas, ya que estas poseen, en su superficie, cargas negativas lo que genera una repulsión electrostática.

Esta característica que podríamos definir innata al material de la cámara y sala podría verse afectado en el tiempo, por una mala conducta de limpieza, pues esta carga negativa de la superficie podría desaparecer lentamente por cambios en el pH, favoreciendo así la adhesión bacteriana. La única forma de paliar este efecto sería realizando unas buenas prácticas de limpieza bien estructuradas a lo largo del tiempo.



Además con gran frecuencia los microorganismos, quedan atrapados con restos orgánicos o inorgánicos en las irregularidades de la superficie, huecos o brechas del material, producidas generalmente durante las maniobras de limpieza (rayazos, golpes, etc). La presencia de depósitos orgánicos (especialmente proteínas y azúcares) así como restos celulares, favorecen el crecimiento de bacterias, y hongos, creando los llamados biofilms o biocapas.

Las biocapas (biofilms) son cúmulos de material orgánico y/o inorgánico que se deposita en las paredes, resguardando y protegiendo los microorganismos. Las bacterias presentes en las biocapas (biofilms) pueden producir un agente gelatinoso que ayuda a la adhesión y sustentabilidad de la misma biocapa.

En estas biocapas (biofilms), los microorganismos crean su propio microcosmos, donde pueden utilizar nutrientes y continuar proliferando.

Además, otros organismos pueden adherirse a la biocapa y compartir sus propiedades protectoras, algunos de los cuales están asociados con efectos perjudiciales a la salud de los seres humanos.

La desinfección de las cámaras y salas de trabajo no asegura la esterilidad de las superficies. Las bacterias pueden sobrevivir al tratamiento de desinfección y utilizar los nutrientes que están en el agua. Diversos estudios han demostrado que las células bacterianas que se adhieren a las superficies son más resistentes al cloro. De ahí que lo más importante sea eliminar estos biofilms pegados a las superficies con una buena limpieza por arrastre para impedir el desarrollo de los microorganismos, manteniendo la superficie limpia antiadherente.

Teniendo en cuenta que los paneles sándwich prefabricado están constituidos por cuatro elementos fundamentales:

1.- Chapa nervada interior o inferior: Constituye la primera piel de la cubierta sándwich. Va colocada directamente sobre la estructura principal del edificio y fijada a ellas

2.- Aislamiento: Material con capacidad aislante colocado entre las dos pieles del panel sándwich prefabricado, con prestaciones necesarias para su fin..

3.- Chapa nervada exterior o superior: Constituye la segunda piel de la cubierta sándwich. Va colocada sobre el aislamiento, y fijada a él. El tipo de chapa seleccionado aportará las características mecánicas y resistentes requeridas por el cliente..

El objeto del estudio será evaluar la capacidad de las bacterias para adherirse a la cara exterior de los paneles sándwich prefabricados, al ser esta cara la que va estar en contacto con los alimentos.

Para la realización del trabajo se han seleccionado las especies más habitualmente aisladas del ambiente y superficies de una cámara de almacenamiento o sala de manipulación:



Los Enterococos pueden estar presentes en la carne cruda de vaca, ternera, cerdo, cordero o aves de corral, en la leche sin pasteurizar, en las aguas no potables. Tras un periodo de incubación de cinco días produce diarrea, dolor abdominal parecido al de la apendicitis, náuseas, vómitos y fiebre.

Escherichia coli Tras una incubación de 24 horas, provoca dolor abdominal intenso, diarrea y fiebre baja. Su medio de transmisión es la carne de vacuno cruda, la leche sin pasteurizar, las frutas, verduras y hortalizas y las aguas no tratadas.

La listeriosis, enfermedad cuyo agente causal es *Listeria monocytogenes*. Su origen está en frutas, verduras y hortalizas frescas, alimentos procesados conservados en frío. Sus síntomas hacen que este problema se confunda con la gripe, aunque la listeriosis puede llegar a producir abortos espontáneos.

La salmonelosis es quizá la contaminación alimentaria más conocida. Su agente causal es *Salmonella choleraesuis*. Se propaga en la carne cruda, especialmente la de aves de corral. Para incubar necesita más de 48 horas, y produce fiebre, cefalea, dolor en las articulaciones, inflamación de la faringe y dolor abdominal.

Los Estafilococos, grupo formado por la especie *Staphylococcus aureus* tienen su origen en la piel, fosas nasales y saliva infectadas de las personas que manipulan los alimentos, en la carne tratada, el pescado y en la leche y sus derivados. Necesita poco tiempo para incubar, de una a ocho horas. Causa náuseas y vómitos, espasmos abdominales, diarrea, cefalea y fiebre.

Las *Pseudomonas* son el grupo de bacterias más frecuente en los alimentos frescos. Debido a su gran potencial metabólico, las bacterias de estos grupos son agentes importantes en la alteración de alimentos. Sin considerar los aspectos de deterioro de vegetales producidos por especies antes citadas, las *Pseudomonas* son uno de los principales grupos responsables de la alteración de productos cárnicos almacenados incorrectamente en condiciones de aerobiosis. Algunas bacterias del grupo son psicrófilas por lo que la alteración de los alimentos que producen también tiene lugar durante la conserva en refrigeración.

Además de estas bacterias se incluye el género *Kluyvera ascorbata* por su importancia en el almacenamiento de frutas y verduras debido a las pérdidas que genera.

El trabajo consistiría en evaluar, la adherencia al Glasliner, (liso, gofrado tipo 1 y 2) frente a estos indicadores típicos de contaminación.



MATERIAL Y METODOS

Preparación del material

1. Medir de la superficie del material.
2. Tratamiento higienizante de la superficie del material a estudio usando alcohol 96°C y dejar secar a temperatura ambiente.
3. Seleccionar las cepas bacterianas a estudio, obteniendo cultivos puros.
4. Realizar los controles de acuerdo con la figura 1
5. Para las muestras a ensayar, se preparan alícuotas de los controles de 2 ml y se añade el material a estudio (liso, gofrado 1 y gofrado 2). Se incubaba a temperatura óptima de crecimiento del microorganismo ($37 \pm 2^\circ\text{C}$) durante 24 ± 2 horas.

Pasado este tiempo se retira el sobrenadante y el material se lava dos veces con abundante agua destilada, y se añaden 2ml de agua destilada como disolución final.

El material tratado con bacterias se pone en un baño con hielo picado, con la finalidad de mantener la temperatura fría de la muestra, se sonica en las condiciones siguientes: Ciclo trabajo = 80 - Pulsos de trabajo= 5 - Tiempo= 2 min, para separar las bacterias adheridas al material. El ensayo se finaliza de acuerdo con la figura 2. Para asegurar que todas las bacterias adheridas se han separado del material una vez sonicado, se pone en una placa de cultivo el material, para garantizar que no existe crecimiento.

El recuento de los microorganismos control (sin material) y de las muestras fueron medidos utilizando un Densimat, y el conteo en placa por triplicado fue expresado en UFC/cm². Todos los ensayos han sido realizados por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSION

Todas las cepas evaluadas mostraron un bajo nivel de adherencia con los materiales utilizados (liso, gofrado 1 y gofrado 2) comparado con los controles.

La concentración de microorganismos adheridos de las cepas a estudio sobre los materiales se indica en la Fig 3. Se observa que no hay diferencias significativas de adherencia al glasliner entre bacterias gram positivas y gram negativas.

Los resultados obtenidos indican un nivel de adhesión de los microorganismos al material Glasliner liso, similar a los obtenidos en estudios científicos internacionales con materiales autorizados para la industria alimentaria, y nivel de adherencia mucho menores cuando se comparan con gofrados tipo 1 y tipo 2 de Glasliner.



De acuerdo con la bibliografía estudiada, si comparamos la adherencia a los materiales de Glasliner y la adherencia al cristal (material referencia), la adherencia de los microorganismos obtenida en material glasliner gofrado es varias unidades logarítmicas menor que para el cristal, pese a que los ensayos realizados con glasliner, los microorganismos se mantuvieron en contacto con el material 24h, mientras que los resultados obtenidos con el cristal el tiempo de contacto microorganismo-material fue tan solo de 3 horas.

Consecuentemente, el material liso, gofrado tipo 1 y tipo 2 de la marca Glasliner puede ser usado como recubrimiento en zonas susceptibles de contaminación microbiana.

BIBLIOGRAFIA

Sommer,P; Martin-Rouas, C and Mettler E. (1999) Influence of the adherent population level on biofilm population, structure and resistance to chlorination. Food Microbiology 16: 503-515

Seok Chae Min; Scharft, H; Truelstrup Hansen, L and Mackereth, R. (2006). Effects of physicochemical surface characteristics of Listeria monocytogenes strains on attachment to glass. Food Microbiology 23:250-259

Ammor,S; Chevallier,I; Laguet, A; Labadie,J.; Talon, R. And Dufour,E. (2004). Investigation of the selective bactericidal effect of several decontaminating solutions on bacterial biofilms including useful, spoilage and/or pathogenic bacteria. Food Microbiology 21: 11-17.

Sharma,M. And Anand, S.K. (2002). Biofilms evaluation as an essential component of HACCP for food/dairy processing industry- a case.Food Control 13: 469-477.

Uzcudun, I,L. (2006). Biofilms bacterianos. Actualidad SEM 37: 14-18.

Piera Serra, G. (2006). Estudio del biofilm: formación y consecuencias. Escola de Prevenció i Seguretat Integral.

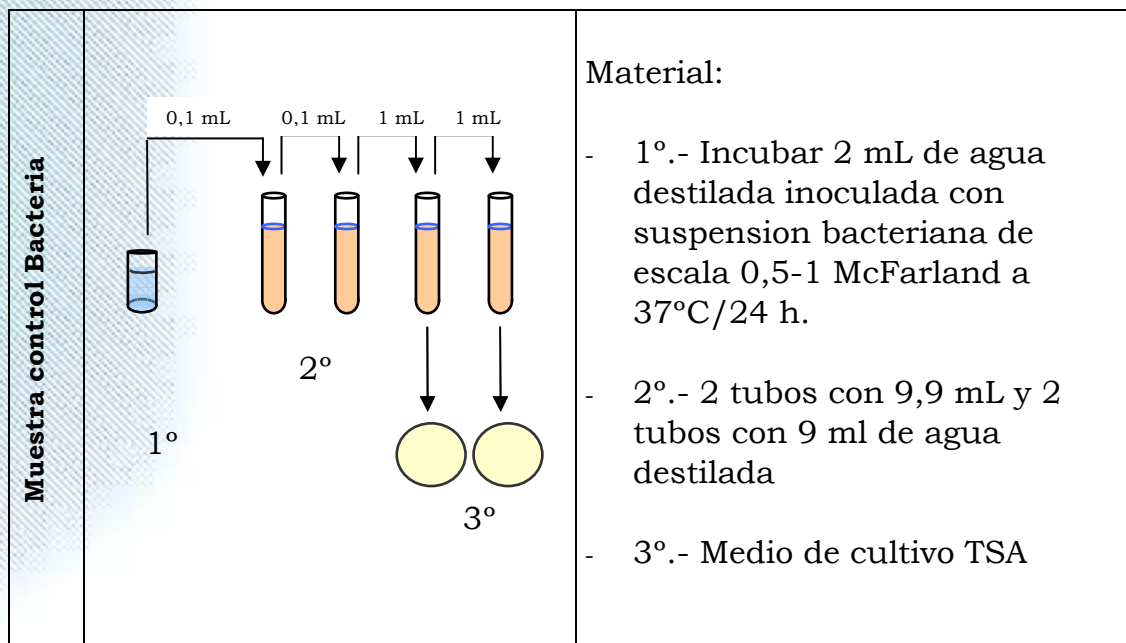
Sharma, M and Anand, S.K. (2002). Characterization of constitutive microflora of biofilms in dairy processing lines. Food Microbiology 19: 627-636.

Guiamet, P.S. and Gomez de saravia, S.G. (2003). Inhibición de la adherencia bacteriana a superficies metálicas por cubiertas de origen biológico. Publicación Técnica y Didáctica nº 43. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de la Plata. Argentina

Pompermayer,D.M.C. and Gaylarde, C.C. (2000). The Influence of temperature on the adhesion of mixed cultures of Staphylococcus aureus and Escherichia coli to polypropylene. Food Microbiology 17: 361-365



Fig 1





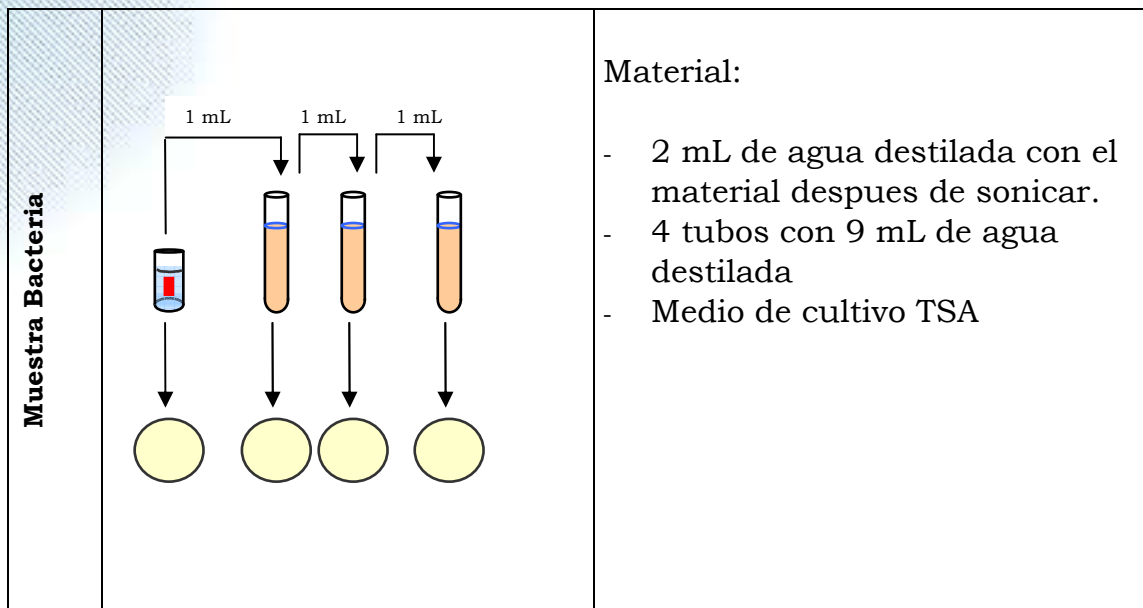
Suspension microorg+ material
37°C /24 H

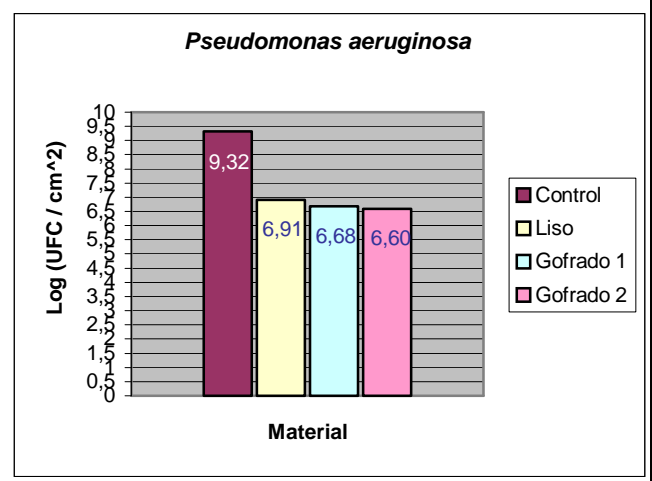
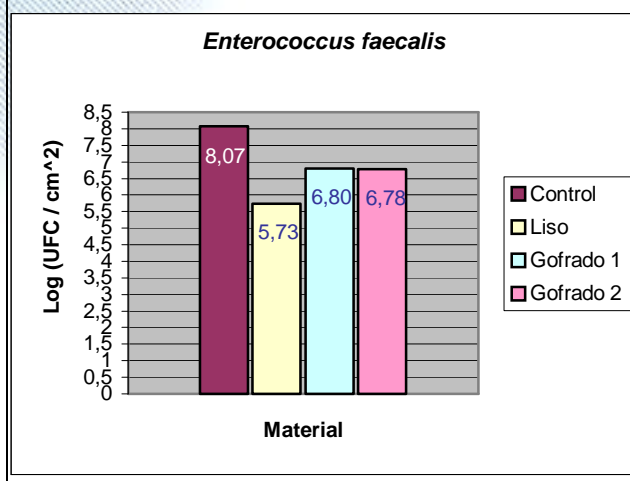
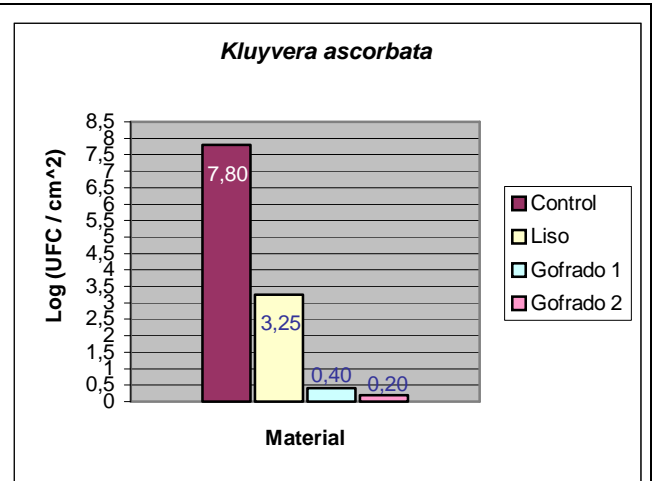
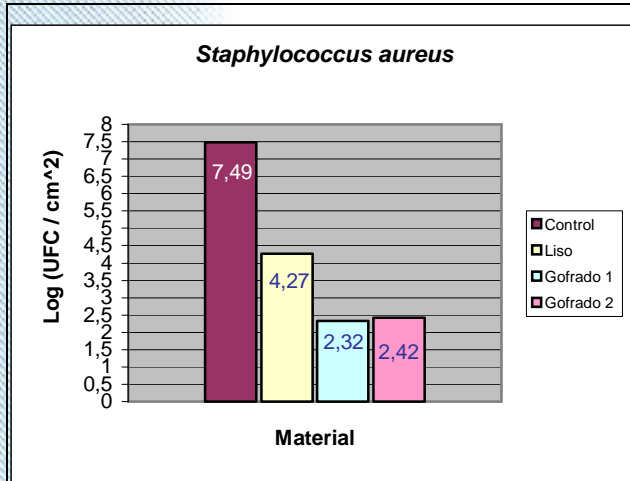


Eliminar sobrenadante, lavar y añadir
2ml de agua destilada



Fig 2





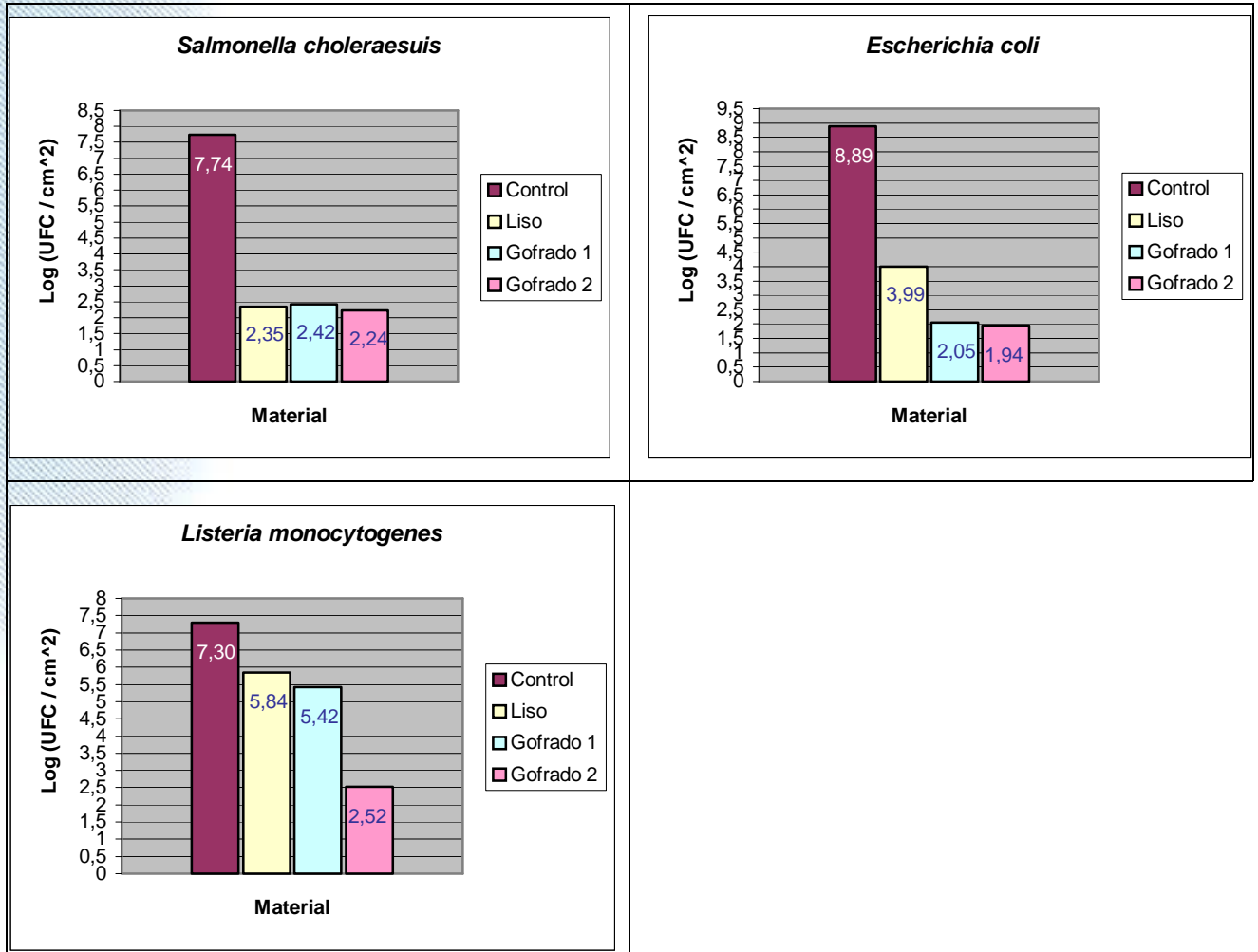


Fig 3