

## Evaluación de la combinación de sanitizantes comerciales y radiación UV-C en la inhibición de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* en superficies de acero inoxidable y plástico

AVILA-SOSA, Raúl\*†, HERNÁNDEZ-CONTRERAS, Lizbeth, CID-PÉREZ, Teresa Soledad, VERA-LÓPEZ, Obdulia

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Fac. Ciencias Químicas, Depto de Bioquímica-Alimentos. Edificio FCQ4, Ciudad Universitaria, CP 72570, Puebla., Puebla

Recibido Marzo 23, 2017; Aceptado 16 Agosto, 2017

### Resumen

En el presente trabajo se evalúan diferentes sanitizantes y/o luz ultravioleta de onda corta (solos o en combinación) sobre las placas de acero inoxidable y plástico inoculadas con *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*. Se utilizaron sanitizantes tales como hipoclorito de sodio, clean bacter, microdyn y cloruro de benzalconio y luz UV-C a diferentes tiempos y finalmente se realizaron los dos métodos combinados, el primero fue exponer los dos tipos de placas a luz UV-C y luego la aplicación de los sanitizantes y viceversa. De las cuatro metodologías realizadas para la inhibición de los diferentes microorganismos utilizados en el tratamiento combinado de sanitizantes más la exposición a luz UV-C fue en el que se obtuvo mejores resultados en un lapso de tiempo menor a comparación de los resultados obtenidos en el tratamiento combinado de luz UV-C más sanitizantes donde se dio el crecimiento de *S. Aureus* y *B. Cereus* y en el tratamiento con solo luz UV-C donde solo se logró la inhibición de *E. Coli* y *Salmonella* spp., por último el tratamiento con sanitizantes solo se vio crecimiento en *S. Aureus* con la aplicación de microdyn.

### Radiación UV-C, sanitizantes, superficies en alimentos

### Abstract

In the present work, different sanitizers and/or UV-C light (alone or in combination) are evaluated on stainless steel and plastic plates inoculated with *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. Sanitizers such as sodium hypochlorite, clean bacter, microdyn and benzalkonium chloride and UV-C light were used at different times and finally the two methods were combined, the first was to expose the two types of plates to UV-C light and then The application of sanitizers and vice versa. Of the four methodologies performed for the inhibition of the different microorganisms used in the combined treatment of sanitizers plus the exposure to UV-C light was in which better results were obtained in a shorter period of time compared to the results obtained in the treatment Combined with UV-C light plus sanitizers where the growth of *S. Aureus* and *B. Cereus* occurred and in the treatment with single UV-C light where only inhibition of *E. Coli* and *Salmonella* spp. Was achieved, finally the treatment With sanitizers only growth was seen in *S. Aureus* with the application of microdyn.

### UVC-light, sanitizers, surfaces

**Citación:** AVILA-SOSA, Raúl, HERNÁNDEZ-CONTRERAS, Lizbeth, CID-PÉREZ, Teresa Soledad, VERA-LÓPEZ, Obdulia. Evaluación de la combinación de sanitizantes comerciales y radiación UV-C en la inhibición de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* en superficies de acero inoxidable y plástico. Revista de Simulación y Laboratorio. 2017, 4-12: 12-24.

\*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: mhernandezg@utsoe.edu)

†Investigador contribuyendo como primer autor

## 1. Introducción

Una de las formas de contraer enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's) es mediante la contaminación cruzada que es la transmisión de microorganismos de una superficie contaminada, a otra que no lo estaba, este tipo de contaminación imperceptible a la vista es una de las causas más frecuentes de infecciones en diferentes áreas, se puede producir de persona a superficie, de superficie a utensilio, de utensilio a superficies y de equipo o utensilio a comida (Egert y col., 2010).

La posibilidad de adquirir una infección pueda resultar del contacto directo con superficies contaminadas, donde la ingestión o contacto con un número relativamente pequeño de microorganismos patógenos puede ser suficiente para causar la infección (Fuster-Valls y col., 2007). Estos microorganismos también van a tener sus propias exigencias, para su crecimiento que incluyen factores físicos y químicos, entre los factores físicos se encuentran la temperatura, pH y presión osmótica, mientras que para los factores químicos son diversos requerimientos bioquímicos de las células algunos son carbono, nitrógeno, azufre y fósforo, sin olvidar que van a requieren de oxígeno (aerobios), aunque no todos los microorganismos lo necesitan (anaerobios).

Por lo tanto, con el tiempo se han implementado diferentes formas para la eliminación de las bacterias y se ha demostrado que las Gram positivas son más resistentes a la irradiación que las Gram negativas, también se ha observado que en los microorganismos que esporulan son más resistentes que los no esporulados (Pereda y col., 2004). Por ello se han buscado la combinación de métodos o tratamientos para disminuir la resistencia de las bacterias ante desinfectantes y antibióticos.

Uno de los nuevos tratamientos utilizados es la luz ultravioleta (UV) que ha presentado buenos resultados disminuyendo e inclusive inhibiendo el crecimiento de bacterias, hongos y virus en cortos lapsos de tiempo y sin dejar residuos de ningún tipo a diferencia de otros tipos de tratamientos, este método se está utilizando en el tratamiento de aguas residuales, alimentos (desinfección, conservación y almacenamiento), también se ha aplicado en la industria para esterilizar instrumentos y superficies (Suárez, 2001).

### 1.1 Justificación

En los últimos años la industria de alimentos se ha preocupado por buscar alternativas para disminuir el uso de los sanitizantes comerciales comúnmente utilizados; lo anterior es debido a que los microorganismos cada vez se vuelven más resistentes lo que incita a incrementar las concentraciones, lo que provoca daños al consumidor; por tanto, surge la necesidad de buscar alternativas físicas como la radiación UV-C que es capaz de inactivar microorganismos y no producir residuos químicos en alimentos y superficies, que además puede ser ocupado solo o en combinación con agentes sanitizantes (reduciendo las dosis). Por lo anterior, se plantea estudiar el efecto individual y combinado de agentes sanitizantes y UV-C sobre la inactivación de microorganismos patógenos como son: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, que son capaces de desarrollarse en superficies metálicas y plásticas.

### 1.2 Problema

Uno de los factores que afectan a la salud pública es la higiene ya que cada vez es mayor el porcentaje de personas que contraen ETA en estos sitios, la higiene de las superficies, equipos y utensilios, es uno de los pilares donde se asientan las buenas prácticas de manufactura.

Se han evidenciado elevados porcentajes de contaminación en superficies públicas, las respuestas a estos niveles son varias, pero una de ellas se basa en la comprobación de que existen microorganismos capaces de resistir los tratamientos habituales de limpieza (Cosby y col., 2008). Por lo tanto, mientras más limpia es un área menor será el número de microorganismos presentes en las superficies y en los alimentos, sin embargo, las personas también son una fuente de contaminación ya que liberan gran cantidad de partículas al moverse, toser, estornudar entre otros (Jay y col., 2005). Por ello es necesario conocer y controlar la calidad microbiológica en el aire, en los materiales y en las superficies en las que se trabaja, ya que pueden ser un foco de contaminación hacia los alimentos (Bergen y col., 2009).

### 1.3 Hipótesis

La combinación de radiación UV-C con los sanitizantes comerciales tienen la capacidad de inhibir microorganismos presentes en superficies donde se procesan

### 1.4 Objetivos

#### 1.4.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de la combinación de sanitizantes comerciales y radiación UV-C en la inhibición de *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* en superficies de acero inoxidable y plástico.

#### 1.4.2 Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de los sanitizantes comerciales a diferentes dosis en superficies de acero inoxidable y plástico inoculadas con *E. coli*, *Salmonella* spp. *S. aureus* y *B. cereus*.

- Evaluar el efecto a diferentes dosis y tiempos de radiación UV-C en superficies de acero inoxidable y plástico inoculadas con *E. coli*, *Salmonella* spp. *S. aureus* y *B. cereus*.
- Evaluar el efecto combinado de UV-C con los sanitizantes comerciales en superficies de acero inoxidable y plástico inoculadas con *E. coli*, *Salmonella* spp. *S. aureus* y *B. cereus*.

## 2. Marco Teórico

### 2.1 Enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's)

Se definen como aquellas enfermedades que se deben a la ingesta de alimentos contaminados por microorganismos, estas se dan cuando dos o más personas sufren una enfermedad similar después de ingerir un mismo alimento y los análisis epidemiológicos señalan al alimento como el origen de la enfermedad, que luego es confirmado por el laboratorio (Martínez y col., 2013). En estas enfermedades el alimento actúa como vehículo de transmisión de organismos dañinos y sustancias tóxicas, entre los microorganismos que llegan a causar este tipo de enfermedades son: bacterias (los síntomas producidos por estos microorganismos son fiebre, dolores de cabeza, náuseas, vómitos, dolores abdominales y diarrea), virus (los síntomas característicos de las infecciones causadas por norovirus son náuseas, vómitos explosivos, diarrea acuosa y dolores abdominales), así como parásitos o sustancias químicas (González-Flores y Rojas-Herrera, 2005).

La contaminación de los alimentos puede producirse en cualquier etapa del proceso que va desde la producción hasta el consumo de los alimentos y puede deberse a contaminación ambiental ya sea del agua, la tierra o el aire, por lo tanto, para que se presente una ETA deben de cumplirse los siguientes puntos.

El patógeno debe estar presente en cantidad suficiente para causar una infección o para producir toxinas. El alimento debe ser capaz de sustentar el crecimiento de los patógenos, o sea, debe presentar características intrínsecas que favorezcan el desarrollo del agente. El alimento debe permanecer a una temperatura óptima durante tiempo suficiente para que el organismo patógeno se multiplique y/o produzca toxinas.

Debe ingerirse una cantidad (porción) del alimento que contenga una alta cantidad del agente, para que la barrera de susceptibilidad del individuo sea sobrepasada (Prieto, 2008). Tomando la información anterior, los microorganismos que causan más casos de ETA's, son las bacterias y en este grupo se encuentran tanto bacterias Gram negativas como Gram positivas, entre las Gram negativas se encuentran las enterobacterias como *E. coli*, *Salmonella spp.*, y por parte de las Gram positivas se encuentra *S. aureus* y *B. cereus*, aclarando que hay más bacterias de los dos grupos que pueden generar ETA's, para esto el microorganismo o la toxina que lo caracterizan deben estar presentes en el alimento, sin embargo, la sola presencia del patógeno no significa que la enfermedad se pueda dar (Fajardo, 2011).

## 2.2 Limpieza y Sanitización

Las superficies limpias y desinfectadas consiguen reducir cerca de un 99% el número de microorganismos, en tanto las superficies que solo son limpiadas los reducen en un 80% (Nobile y col., 2002). Por lo cual, las superficies tienen riesgo mínimo de transmisión directa de infección, pero pueden contribuir a la contaminación cruzada secundaria.

Por medio de las manos de los manipuladores de alimentos o personal que utilice estas superficies, haciendo que se puedan contaminar los instrumentos o productos y posteriormente contaminar a los alimentos, personas u otras superficies (Gutiérrez y Dueñas, 2012).

Por ello, en todo servicio de alimentos debe establecerse un sistema de limpieza y desinfección programado y periódico, que incluya todas las instalaciones, maquinaria y demás equipos, determinando aquellos equipos y materiales considerados como más críticos, con el objeto de prestarles una mayor atención. Por lo tanto, todos los métodos de limpieza, incluso las espumas, requieren un tiempo de contacto suficiente para soltar y suspender la suciedad y eliminar o reducir la carga bacteriana que tiene la superficie (Fajardo, 2011).

## 2.3 Radiación Ultravioleta (UV)

La luz UV es una radiación que se origina a partir de transiciones electrónicas de capas exteriores de átomos, cuya fuente principal es el sol y está situada entre las bandas de rayos X y la luz visible, con longitudes de onda que van desde 180 hasta 400 nm, esta se clasifica primordialmente en tres tipos:

UV-A: radiación ultravioleta larga o próxima

UV-B: radiación ultravioleta media

UV-C radiación ultravioleta lejana, corta o radiación germicida ya que esta tiene la prioridad de inactivar microorganismos como son bacterias, hongos, algas y protozoos, o estructuras como los virus (Wright y Cairns, 1998).

Díaz y Serrano, 2014). La radiación UV-C ha sido empleada en el tratamiento de purificación de aguas, desinfección de aire, líquidos y superficies, para el tratamiento de alimentos líquidos sensibles al calor como zumos, en quirófanos, salas de aislamiento, cabinas de seguridad biológica, también en la industria cosmética y farmacéutica, pero está no va a penetrar en líquidos turbios o debajo de superficies de películas o sólidos, una de sus mayores ventajas es que no tiene ninguna actividad residual, cabe destacar que el poder germicida de la radiación disminuye al aumentar la distancia desde la fuente de luz (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004).

## 2.4 Mecanismo de acción

El tiempo de exposición, la dosis y el perfil de flujo son esenciales en la luz UV-C para lograr la reducción microbiana necesaria, cuando se expone a los microorganismos a la radiación UV-C, ésta va a penetrar la pared celular hasta llegar a donde se encuentra la información genética dañando así el ADN para impedir la reproducción celular (Díaz y Serrano, 2014). El mecanismo de acción letal depende de su absorción por el ADN, pudiendo detener el crecimiento celular y provocar la muerte.

La radiación absorbida por los nucleótidos produce cambios físicos de electrones, formando uniones cruzadas entre tiamina y citosina, (nucleótidos de bases pirimidínicas) pertenecientes a la misma cadena, lo que provoca la formación de dímeros ciclobutil pirimidina (Guerrero-Beltrán y Barbosa-Cánovas, 2004). No obstante, es posible que ocurra una reactivación dado que el ADN puede ser reparado por factores proteínicos, sin embargo, cabe aclarar que un ambiente oscuro puede evitar la foto reactivación de productos tratados con radiación UV o restaurar las células expuestas,.

Estas células foto reactivadas pueden ser más resistentes a la radiación UV-C cuando se aplica un segundo tratamiento de UV-C (Sastry y col. 2000).

## 3. Metodología de Investigación

### 3.1 Tipo de Investigación

Investigación experimental descriptiva

### 3.2 Aislamiento e identificación de las cepas

En este proyecto se trabajó con *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*, siendo estas bacterias proporcionadas por el cepario de la Facultad de Ciencia Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Para la identificación de *E. coli*, en agar Mac Conkey y se realizaron pruebas bioquímicas (citrato, TSI, O/F, Urea, MIO). Para *Salmonella* spp., se utilizó agar *Salmonella-Shigella* además de las pruebas bioquímicas. Para la identificación de *S. aureus* en agar sal y manitol y la prueba de DNAsa. Finalmente, para *B. cereus* en agar nutritivo y sangre.

### 3.3 Inoculación de las placas de acero inoxidable y plástico

Se inoculó con cada una de las cepas conservadas, los caldos se incubaron a 37 °C durante 24 h para permitir su crecimiento hasta obtener una concentración correspondiente a la escala de Mc Farland de  $1.5 \times 10^7$  UFC/mL aproximadamente de cada microorganismo. Se trabajó con dos tipos de superficies: placas de acero inoxidable y plástico, ambos tipos de placas con medidas de 6 cm de largo x 3 cm de ancho, una vez esterilizadas con hisopos fueron inoculadas, llenando la superficie con caldo de las bacterias correspondientes distribuido uniformemente, se dejaron secar y se procedió a la aplicación de los sanitizantes por triplicado y se dejó actuar a cada uno de estos según la indicación de sus etiquetas (Tabla 1).

Sanitizante	Indicaciones
Cloralex	80 mL/4.5 L de agua por 5 min.
Microdyn	8 gotas/1 L de agua por 10 min
Clean bacter	1 mL/500 mL de agua por 10 min.
Benzal	Rociar la superficie y limpiar de inmediato.

**Tabla 1** Indicaciones de los sanitizantes para su aplicación

### 3.4 Evaluación del tratamiento con radiación UV-C

Teniendo las placas de acero inoxidable y/o plástico inoculadas y secas se irradiaron con lámparas de UV-C (260 nm) a diferentes tiempos 0, 20, 30, 60, 90, 120 o 240 segundos.

### 3.5 Evaluación de sanitizantes más radiación UV-C

Teniendo las superficies de acero inoxidable y/o plástico inoculadas y secas, se aplicó cada uno de los sanitizantes al secarse nuevamente las placas se irradiaron con UV-C (260 nm) a los diferentes tiempos: 20 y 30 s para *E. coli*; 20 y 30 s para *Salmonella* spp.; 30, 60, 90 y 120 s para *S. aureus*; y 30, 60, 90, 120 y 240 s para *B. cereus*.

### 3.6 Evaluación de luz UV-C más sanitizantes

Teniendo placas de acero inoxidable y/o plástico inoculadas y secas se irradiación con UV-C (260 nm) a los tiempos mencionados en la etapa anterior para cada microorganismo, después se puso cada uno de los diferentes sanitizantes siguiendo nuevamente las indicaciones de las etiquetas.

### 3.7 Diluciones de las muestras y método de vertido en placa

Teniendo las superficies tratadas y nuevamente secas tanto de acero inoxidable y/o plástico se hizo el raspado con un hisopo de cada una de las superficies y se hicieron diluciones en peptona de caseína.

Después se realizó el método de vertido en placa de cada muestra por triplicado y se incubaron por 24, 48 y 72 h a 37 °C para hacer el conteo de UFC/cm<sup>2</sup> (NOM-210-SSA1-2014).

### 3.8 Análisis de resultados

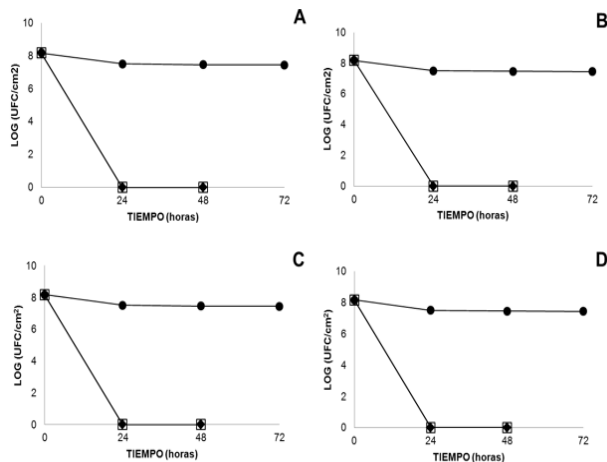
Se realizó la cuantificación de las UFC/cm<sup>2</sup> de cada microorganismo. A los resultados obtenidos se transformaron a log<sub>10</sub> y se les determinó media y desviación estándar, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95%

## 4. Resultados

### 4.1 Evaluación del tratamiento de diferentes sanitizantes comerciales

La efectividad de un proceso de sanitización puede ser adecuada teniendo en cuenta que se debe seleccionar el sanitizante apropiado para el microorganismo que va a ser inactivado, también depende de la selección del agente y de su capacidad de inhibición, se debe tener en cuenta que la mayoría de los sanitizantes químicos tiene actividad limitada contra las esporas, por ello los sanitizantes se deben utilizar a la concentración apropiada ya que en concentraciones inadecuadas pueden generar una mala desinfección o ser tóxico debido a altas concentraciones o bien generar resistencia (Sánchez-Saldaña y Sáenz-Anduaga, 2005).

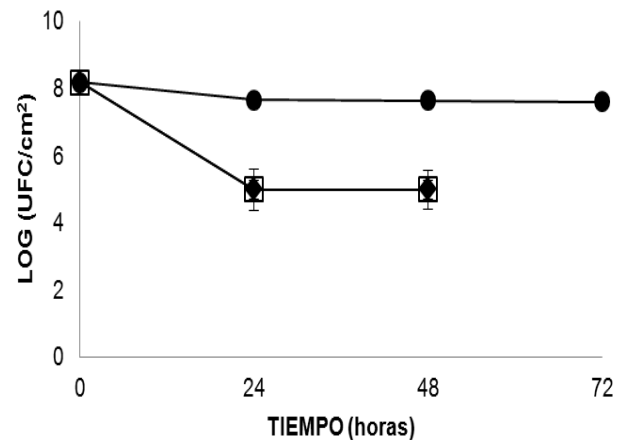
Como se puede observar en la Figura 1 que *E. coli* se inhibió a partir de las 24 horas utilizando los cuatro sanitizantes, hipoclorito de sodio (A), plata coloidal (B), clean bacter (C) y cloruro de benzalconio (D) donde se ve la disminución de 8 ciclos logarítmicos en cada uno de los sanitizantes por lo que se puede determinar que cumplen su efecto antimicrobiano ante *E. coli*, pero también se obtuvo el mismo efecto en otras bacterias tales como *Salmonella* spp y *B. cereus*.



**Figura 1** Inhibición de *E. coli* con diferentes sanitizantes (A) Cloralex, (B) Microdyn, (C) Clean bacter y (D) Benzal) en dos tipos de superficies (Acero inoxidable ◆, Plástico □ y Control ●).

Por otro lado, los compuestos de plata producen su efecto bactericida debido al tiempo de descarga de los iones de plata y a la concentración de este compuesto, su eficacia está directamente relacionada con la constante presencia de los iones de plata libres dentro del microorganismo el cual ingresara por la membrana haciendo un daño irreversible (Sánchez-Saldaña y Sáenz-Anduaga, 2005).

En la Figura 2 se muestra el resultado obtenido en *S. aureus* tratado con Microdyn donde se observa una disminución de 3 ciclos logarítmicos tanto en 24 como 48 h, esto se debe a la cantidad de plata coloidal presente en el sanitizante (1.5 ppm) que no es suficiente para inhibir a esta bacteria (5 ppm), no hubo diferencias significativas ( $p > 0.05$ ?) entre las placas de acero inoxidable y plástico.



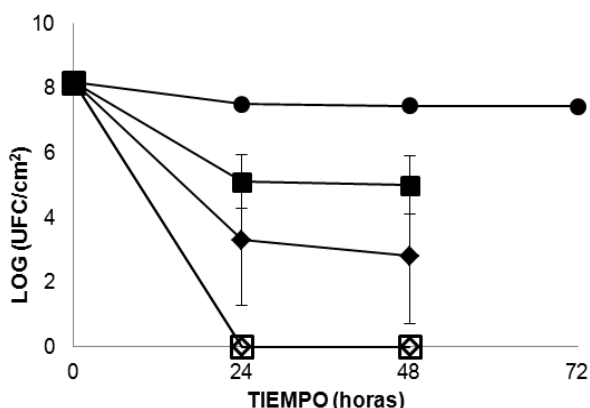
**Figura 2** Evaluación de la acción de Microdyn sobre *S. aureus* utilizando dos tipos de superficies. Acero inoxidable (◆) y Plástico (□) y Control (●).

#### 4.2 Evaluación del efecto con luz UV-C a diferentes tiempos

El mecanismo de desinfección por UV-C depende de la absorción de la radiación por las proteínas y por los ácidos nucleicos (ADN y ARN) del microorganismo, la absorción de dosis altas de UV-C por las proteínas presentes en las membranas celulares lleva a la ruptura de esas membranas y consecuentemente a la muerte de la célula, en cambio la absorción de dosis más bajas de UV-C por el ADN puede interrumpir la capacidad del microorganismo de reproducirse (Choudhary y Bandla, 2012).

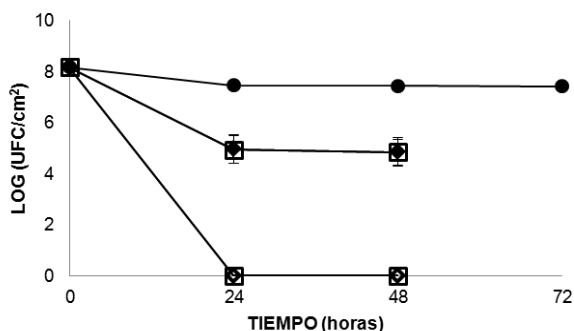
En la Figura 3 se muestra el efecto de luz UV-C sobre *E. coli* donde se observó que a 20 segundos de exposición en las placas de acero inoxidable se disminuyó 5 ciclos logarítmicos a comparación de las placas de plástico donde disminuyeron 3 ciclos logarítmicos, en las superficies de plástico se llega a dar una mayor adhesión de los microorganismos por las hendiduras que se forman en este tipo de material en el cual los microorganismos se almacenan mientras que en el caso del acero inoxidable este tiene una cubierta de cromo que no permite que se adhieran con facilidad los mismos.

Por otra parte, al ser expuestas las placas a 30 segundos hubo una disminución de 8 ciclos logarítmicos, encontrándose diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).



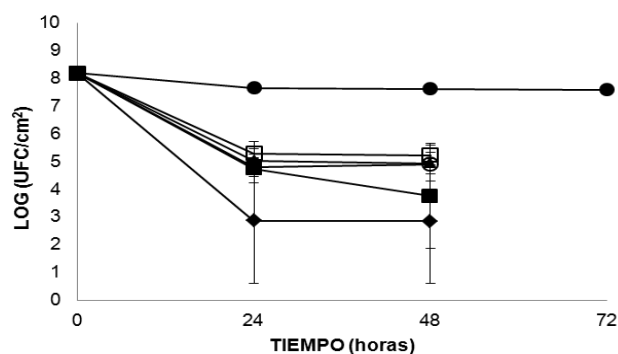
**Figura 3** Evaluación del tratamiento de *E. coli* con UV-C utilizando dos tipos de superficies a diferentes tiempos. Acero inoxidable ◆ (20 seg), ◇ (30 seg) y Plástico ■ (20 seg), □ (30 seg) y Control (●).

En la Figura 4 se observa el resultado para *Salmonella* spp., mostrando que es suficiente aplicar 30 s de exposición a UV-C para generar un efecto similar a lo obtenido en *E. coli*, mientras que a los 20 s se redujeron 3 ciclos logarítmicos tanto en las placas de acero inoxidable como de plástico.



**Figura 4** Evaluación del tratamiento de *Salmonella* spp., con UV-C utilizando dos tipos de superficies a diferentes tiempos. Acero inoxidable ◆ (20 seg), ◇ (30 seg) y Plástico ■ (20 seg), □ (30 seg) y Control (●).

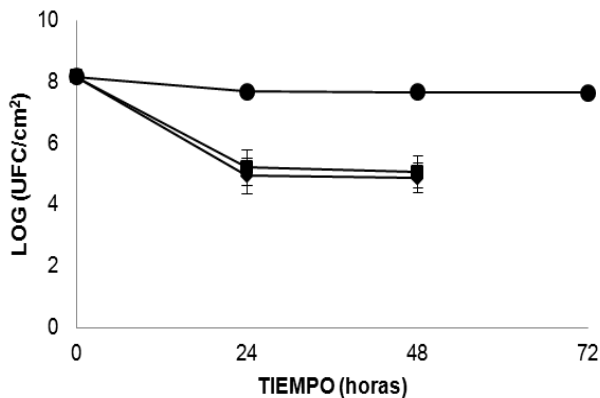
En la Figura 5 se muestran los resultados de *S. aureus* expuesto a luz UV-C a diferentes tiempos siendo las placas de acero inoxidable donde se vio un mejor resultado siendo así que en 30, 60 y 90 s se disminuyeron 3 ciclos logarítmicos y a 120 s 5 ciclos logarítmicos, mientras que en el caso de las placas de plástico a 240 s solo se pudieron disminuir 3 ciclos logarítmicos a las 24 h y 4 ciclos a las 48 h.



**Figura 5** Evaluación del tratamiento de *S. aureus* con UV-C utilizando dos tipos de superficies a diferentes tiempos. Acero inoxidable ▲ (30 seg), ○ (60 seg), □ (90 seg), ◆ (120 seg) y Plástico ■ (240 seg) y Control (●).

Para el caso de *B. cereus* (Figura 6) al ser expuesto a luz UV-C a los 240 s tanto en las placas de acero inoxidable como de plástico se logran disminuir 3 ciclos logarítmicos, esto se debe a que esta bacteria produce esporas como forma de protección y al ser sometida a la luz UV-C se produce un estrés que provocó su esporulación y por tanto solo su disminución en la carga microbiana sin llegar a la inhibición (Huesca-Espitia y col., 2014).



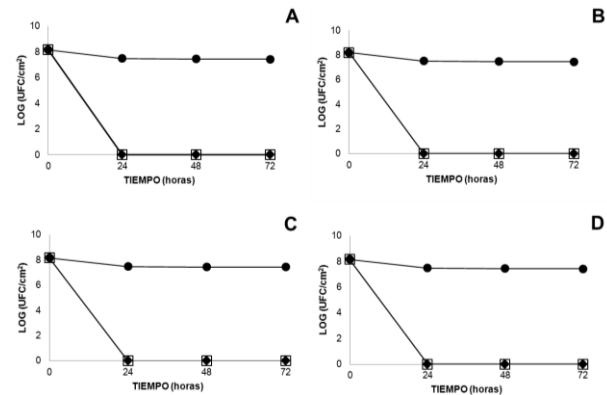


**Figura 6.** Evaluación de tratamiento de *B. cereus* con UV-C utilizando dos tipos de superficies a diferentes tiempos. Acero inoxidable ◆(240 seg) y Plástico ■ (240 seg) y Control (●).

#### 4.3 Evaluación de tratamientos combinados: UV-C más sanitizantes

Con el descubrimiento en los últimos años de los residuos que pueden generar los sanitizantes al paso del tiempo y los problemas de salud que pueden ocasionar en el ser humano se han implementado nuevos sistemas de esterilización, una de estas es el uso de radiaciones UV-C la cual no deja residuos ante su exposición, es por ello que una alternativa es combinar ambos tratamientos para disminuir la exposición de UV-C y disminuir los tiempos y dosis de sanitizantes (Koutchma y col., 2009).

En la Figura 7 se presenta el resultado obtenido en *E. coli* en la combinación de la exposición de luz UV-C y después sanitizantes comerciales, en este caso se utilizó un tiempo de 20 s de exposición a UV-C obteniendo la inhibición (disminución de los 8 ciclos logarítmicos) de *E. coli* con todos los sanitizantes ( $p > 0.05$ ), también se obtuvo el mismo resultado con el mismo tiempo de exposición en UV-C en *Salmonella* spp.

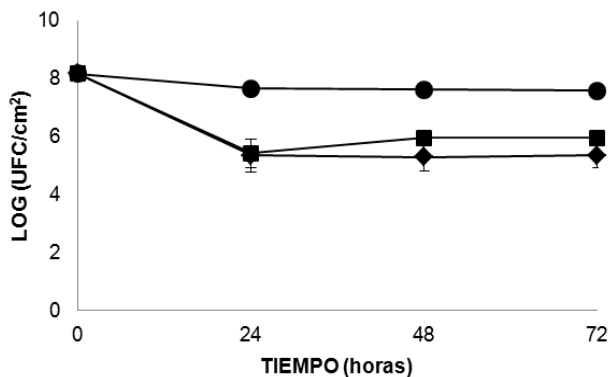


**Figura 7** Inhibición de *E. coli* con tratamiento combinado usando luz UV-C y diferentes sanitizantes (A) UV-C + Cloralex, (B) UV-C + Microdyn, (C) UV-C + Clean bacter y (D) UV-C + Benzal en dos tipos de superficies: Acero inoxidable (◆) y Plástico (□) y Control (●).

En el proceso de desinfección con radiación ultravioleta pueden ocurrir dos fenómenos, bajo algunas condiciones ciertos microorganismos poseen la capacidad de reparar el daño causado por el DNA durante la exposición y retornar al estado original, inclusive volviéndose a reproducir con algunas células dañadas puede ocurrir el proceso de fotorreacción al ser expuestas a luz adecuada o a temperaturas primordiales se puede producir reversión (Guimarães y col., 2001).

En la Figura 8 se muestra los resultados obtenidos en *S. aureus* donde fueron expuestas las placas a 120 s en acero inoxidable y 240 s en plástico de luz UV-C para después ser tratadas con Microdyn, donde se puede observar que solo se pudieron disminuir 3 ciclos logarítmicos a las 24 h tanto en las placas de acero inoxidable como de plástico, mientras que a las 48 h en las placas de plástico se dio un incremento de la bacteria teniendo una disminución de 2 ciclos, esto se debe que al ser estresada la bacteria con UV-C al suministrarse el sanitizante este no fue capaz de inhibirla por la resistencia que esta produjo. La patogenicidad de *S. aureus* se debe al efecto combinado de factores extracelulares y de sus toxinas.

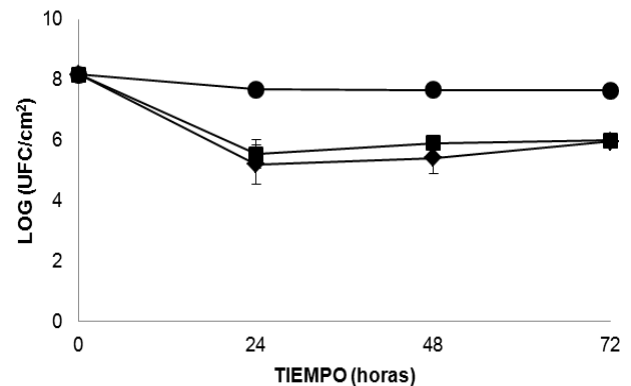
Una forma de protección que tiene esta bacteria es la cápsula de naturaleza polisacárida denominada cápsula mucoide, que permite que la bacteria se adhieran a las superficies lisas además de tener capacidad antifagocitaria también es la promotora de la formación de biopelículas que ayuda a la prolongar a la infección, colonización y diseminación de *S. aureus* haciendo que sea difícil su inhibición (Cabrera y col., 2007; Cervantes y col., 2014).



**Figura 8.** Evaluación del tratamiento combinado de UV-C con Microdyn en *S. aureus* utilizando dos tipos de superficies. Acero inoxidable (◆) y Plástico (■) y Control (●)

En la Figura 9 se muestra el resultado obtenido en *B. cereus* donde se expusieron las placas de acero inoxidable y plástico a 240 s de luz UV-C y después se le suministro Microdyn donde se puede observar que se dió la disminución de 3 ciclos logarítmicos a las 24 h en los dos tipos de placas, mientras que a las 48 h se da un aumento en la carga microbiana siendo más notable en las placas de plástico y llegando a las 72 h solo se logró la disminución de 2 ciclos logarítmicos en los dos tipos de placas, esto se debe que al ser *B. cereus* una bacteria que es capaz de formar esporas, cuando esta fue sometida a UV-C se formaron las esporas como protección por lo cual el Microdyn no fue capaz de inhibir a la bacteria, por ello al paso de las horas se pudo dar de nuevo el crecimiento de esta.

*B. cereus* tiene muchas estrategias para sobrevivir al ambiente, implican con frecuencia la formación de esporas o esporulación donde se resguardará y conservará el genoma bacteriano, estas son fabricadas por la respuesta al estrés al que se sometió a la bacteria y hasta que mejore las condiciones ambientales estas esporas germinaran y se vuelve a dar el crecimiento bacteriano (Huesca-Espitia y col., 2014).

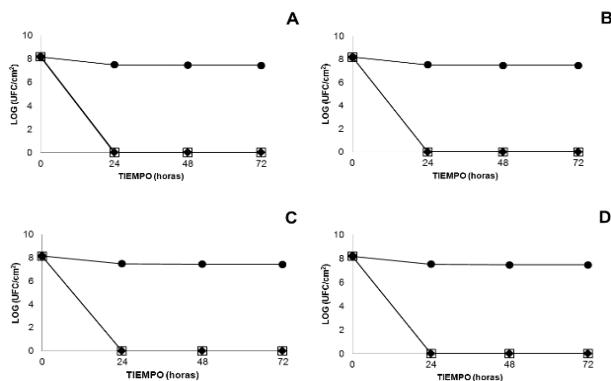


**Figura 9** Evaluación del tratamiento combinado de UV-C con Microdyn en *Bacillus cereus* utilizando dos tipos de superficies. Acero inoxidable (◆) y Plástico (■) y Control (●).

#### 4.4 Evaluación de tratamientos combinados: Sanitizantes más UV-C

En la Figura 10 se muestra el resultado obtenido en *E. coli* al ser tratado primero con los sanitizantes a diferentes concentraciones y después expuesto a luz UV-C donde se observa que se da la disminución de los 8 ciclos logarítmicos (inhibición), esto también se obtuvo con las demás bacterias (*Salmonella* spp., *S. aureus* y *B. cereus*) a diferencia del primer tratamiento combinado, este se debe que al poner los sanitizantes primero en la placas se disminuye la carga bacteriana por ellos al ser expuestos a UV-C fue más fácil la eliminación de las bacterias restantes, algunos sanitizantes dejan residuos dañinos para el ser humano o permiten que las bacterias se puedan desarrollar de nuevo.

Sin embargo, la luz UV-C no deja ningún tipo de residuo es por ello que este método combinado es el más efectivo, porque se inhiben las bacterias y no queda ningún tipo de residuo tanto bacteriano como de los sanitizantes. La radiación UV-C es una nueva tecnología prometedora de descontaminación de la superficies, ya que es seguro y no deja ningún efecto residual en los productos alimenticios tratados además al ser combinado con otras técnicas de esterilización reduce aún más los costes y los tiempos de tratamiento, ya que además de ser germicida, se han encontrado tratamientos UV-C para inducir cambios deseables en los componentes de las frutas y verduras como el aumento de la capacidad antioxidante y una mayor vida útil (Wang y col., 2009).



**Figura 10.** Inhibición de *E. coli* con tratamiento combinado usando diferentes sanitizantes y Luz UV-C (A) Cloralex + UV-C, (B) Microdyn + UV-C, (C) Clean bacter + UV-C y (D) Benzal + UV-C utilizando dos tipos de superficies. Acero inoxidable (◆) y Plástico (□) y Control (●)

## 5. Conclusiones

El hipoclorito de sodio, clean bacter y cloruro de benzalconio fueron capaces de inhibir a las bacterias tratadas, sin embargo, Microdyn no fue capaz de inhibir a *Staphylococcus aureus* solo logró disminuirlo 3 ciclos logarítmicos.

Todas las bacterias necesitan un tiempo distinto de exposición a UV-C; las bacterias Gram positivas que se trataron necesitaron mayor tiempo de exposición (240 s) que las Gram negativas (30 s). Cuando se utiliza algún método combinado a veces no se logra inhibir a algunos microorganismos tal fue el caso del tratamiento a *S. aureus* y *B. cereus* que fueron expuestas primero a luz UV-C y luego tratadas con Microdyn donde solo se obtuvo la disminución de la carga microbiana.

Utilizando métodos combinados para la eliminación de microorganismos sobre placas de acero inoxidable y plástico la forma más efectiva fue utilizar primero los sanitizantes y después irradiarlos con luz UV-C es así como se inhibieron todas las bacterias

## 6. Referencias

Bergen, L.K., Meyer, M., Hog, M., Rubenhagen, B., Andersen, L.P. 2009. Spread of bacteria on surfaces when cleaning with microfibre cloths. *Journal of Hospital Infection*, 71(2): 132-137.

Cabrera, C.E., Gómez, R.F., Zúñiga, A.E. 2007. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica*, 37(2): 149-159.

Cervantes-García, E., García-González, R., Salazar-Schettino, P. M. 2014. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(1): 28-40.

Choudhary, R., Bandla, S. 2012. Ultraviolet pasteurization for food industry. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering*, 2(1): 12-15.

- Cosby, C.M., Costello, C.A., Morris, W.C., Houghton, B., Devereaux, M. J., Harte, F., Davidson, P.M. 2008. Microbiological analysis of food contact surfaces in child care centers. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(22): 6918-6922.
- Díaz, F., Serrano, L. 2014. Desinfección de Agua con luz Ultravioleta. Germ-ex, S.A. de C.V. Disponible en <http://www.agualatinoamerica.com/docs/PDF/3-4-02diaz.pdf>. Consultado: Febrero 2017.
- Egert, M., Schmidt, I., Bussey, K., Breves, R. 2010. A glimpse under the rim—the composition of microbial biofilm communities in domestic toilets. *Journal of Applied Microbiology*, 108(4): 1167-1174.
- Fajardo, I.G. 2011. Alimentos seguros: Guía básica sobre seguridad alimentaria. Ediciones Díaz de Santos, Madrid, España.
- Fuster-Valls, N., Rodríguez-Jerez, J.J., Hernández-Herrero, M.M. 2007. Importancia del control higiénico de las superficies alimentarias mediante técnicas rápidas y tradicionales para evitar y/o minimizar las contaminaciones cruzadas. Universidad Autónoma de Barcelona, España.
- González-Flores, T., Rojas-Herrera, R.A. 2005. Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico. *Salud pública de México*, 47(5): 388-390.
- Guerrero-Beltrán, J.A., Barbosa-Cánovas, G.V. 2004. Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos*, 10(3). 137-147.
- Guimarães, J.R., Ibáñez, J., Litter, M.I., Pizarro, R. 2001. Desinfección de agua. eliminación de contaminantes por fotocatalisis. *Heterogénea*, 3(2): 375-388.
- Gutiérrez, P., Dueñas, O.L. 2012. Evaluación de propiedades antimicrobianas de cuatro productos desinfectantes para superficies de contacto con productos cárnicos listos para consumir. Bachelor's thesis, Zamorano: Escuela Agrícola Panamericana.
- Huesca-Espitia, L.C., Sánchez-Salas, J.L., Bandala, E.R. 2014. Métodos para la inactivación de esporas en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 8(1): 48-67.
- Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. 2005. Culture, microscopic, and sampling methods. *Modern food microbiology*, Springer, New York, 217-240.
- Koutchma, T.N, Forney L.J., Moraru C.I. 2009. Principles of validation of UV-Light pasteurization. En: *Ultraviolet light in Food Technology*. CRC Press, Boca Raton, 215-234.
- Martínez, E.M., Cañetas, X.G., Martínez, D.S., Vanegas, E. 2013. Irradiación de alimentos. *Toxicología de los alimentos*, 8(3): 317-325.
- Nobile, C.G., Montuori, P., Diaco, E., Villari, P. 2002. Healthcare personnel and hand decontamination in intensive care units: knowledge, attitudes, and behaviour in Italy. *Journal of hospital infection*, 51(3): 226-232.
- Pereda, J.A., Iglesias, M.J., Cosnao, G. Z., Carballeira, A.O. 2004. Aplicación de radiaciones ionizantes a los alimentos. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, 1(2): 11-44.
- Prieto, M. (2008). Concepto de calidad en la industria agroalimentaria. *Interciencia*, 33(4): 258-264.
- Sánchez Saldaña, L., Sáenz Anduaga, E.M. 2005. Antisépticos y desinfectantes. *Dermatología Perú*, 15(2): 82-107.

Sastry, S.K., Datta, A.K., Worobo, R.W. 2000. Ultraviolet light. *Journal of Food Science*, 65(8): 90-92.

Secretaría de Salud. 2014. Norma Oficial Mexicana NOM-210-SSA1-2014, Productos y Servicios Determinación de microorganismos indicadores y patógenos.

Suárez, R. 2001. Conservación de alimentos por irradiación. *Invenio: Revista de investigación académica*, 2(6) 85-124.

Wang, C.Y., Chen, C.T. Wang, S.Y. 2009. Los cambios de contenido de flavonoides y la capacidad antioxidante de los arándanos después de la iluminación con UV-C. *Tecnología Química*, 36(1): 5–20

Wright, H.B., Cairns, W.L. 1998. Ultraviolet light. *Regional Symposium on Water Quality: Effective Disinfection*. CEPIS. 1-26.