

E. Orihuel, F. Lorenzo, C. López, M. Catalá, N. de la Fuente, R. Bertó, J.J. Canet
Departamento Técnico y de Investigación, Betelgeux S.L.

C. San José, B. Orgaz

Departamento de Nutrición, Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad Complutense de Madrid

S. Porta
Laboratorio de bioensayos, AINIA Centro Tecnológico

En colaboración con:



Los biofilms suponen un riesgo higiénico y operativo en todo tipo de industrias químicas y, particularmente, alimentarias. Su detección y eliminación requiere procesos largos, costosos y a menudo poco efectivos. En este proyecto se ha desarrollado un sistema para la identificación rápida y sencilla de biofilms sobre superficies, basado en tintes específicos de la matriz del biofilm, y una gama de productos basados en la combinación sinérgica de diversos compuestos químicos, que proporciona una eficaz eliminación del biofilm mediante su desprendimiento de la superficie y eliminación de los microorganismos presentes.

Introducción

Biofilms: un problema en la industrias alimentarias y químicas

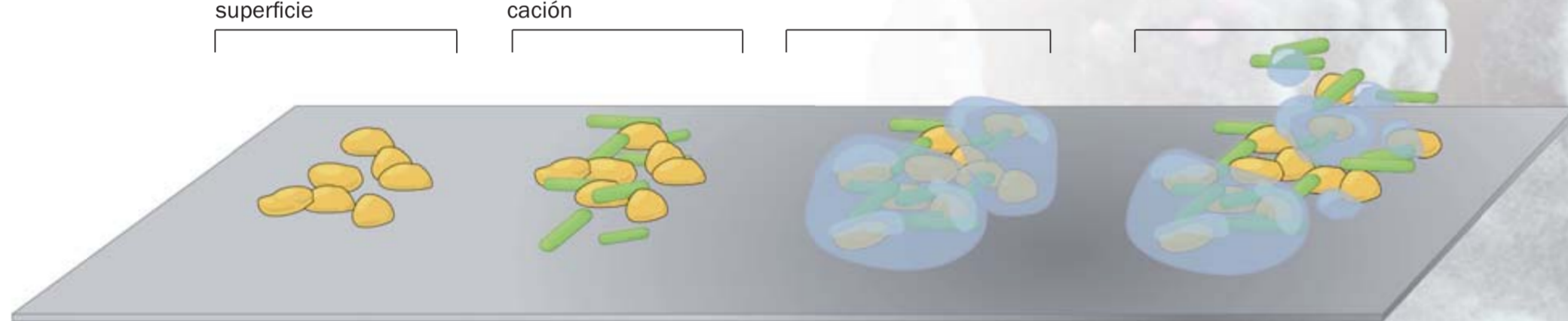
Los biofilms son agrupaciones de microorganismos adheridos entre sí sobre una superficie. Estos microorganismos generan una matriz polimérica extracelular, compuesta por ADN, proteínas y polisacáridos, que los protege frente a su entorno.

La formación de biofilms supone un riesgo higiénico y operativo, ya que éstos actúan como foco de concentración de microorganismos, fuente potencial de contaminaciones futuras, y provoca la degradación de los materiales y disminución de la capacidad de intercambio térmico en los equipos.

Los biofilms son difíciles de detectar debido a su tamaño microscópico, y son difíciles de eliminar debido a la matriz polimérica que protege a los microorganismos frente a agentes químicos y desinfectantes.

Se ha detectado la presencia de biofilms en una gran variedad de entornos (industria alimentaria, cosmética, farmacéutica, petroquímica, etc.) y en los materiales más comunes (acero, PTFE, PVC, cerámica, aluminio, vidrio, etc.), por lo que se trata de un problema de amplio alcance.

1. Adhesión de residuos orgánicos sobre la superficie
2. Colonización por bacterias y multiplicación
3. Formación de la matriz polimérica extracelular
4. Dispersión de la matriz y los microorganismos



Mecanismo de formación de biofilms sobre una superficie sometida a un flujo continuado de nutrientes y microorganismos

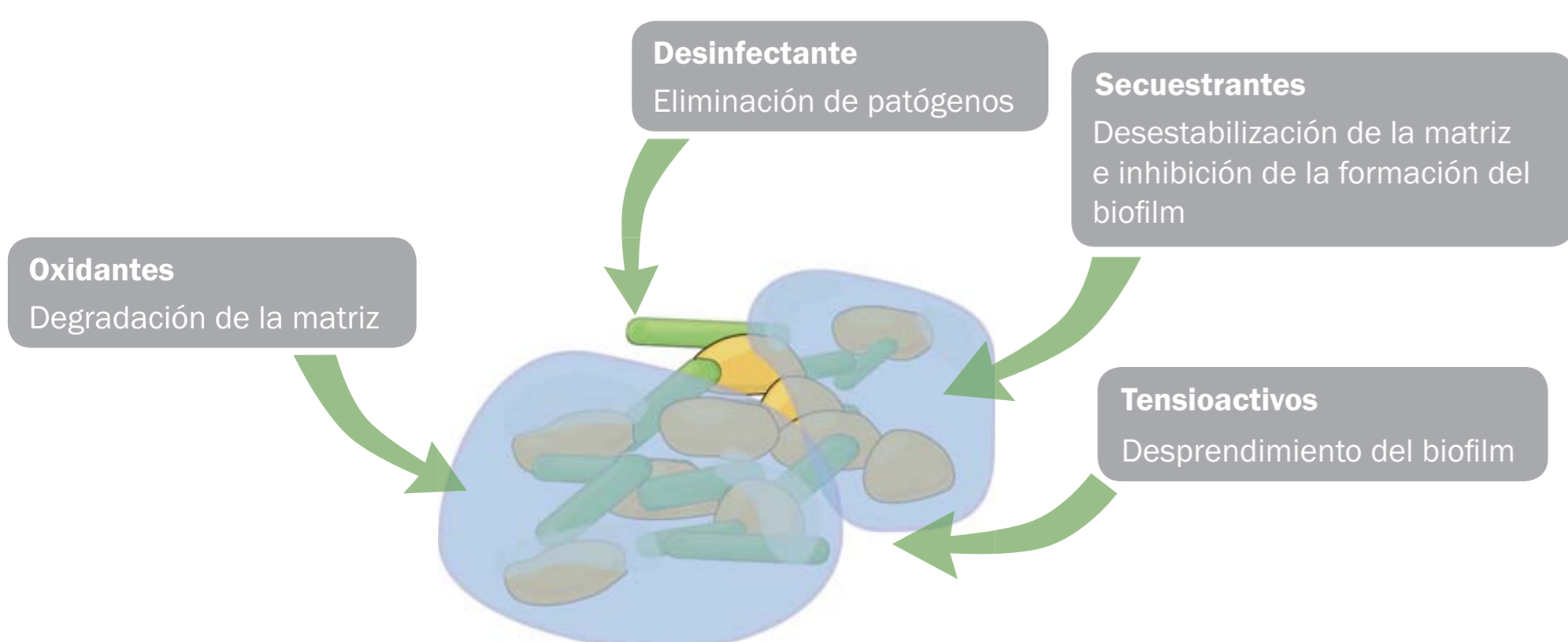
Eliminación

Una nueva solución para la eliminación de biofilms

Habitualmente, la eliminación de biofilms se basa en la utilización de productos de base enzimática que degradan la matriz protectora del biofilm, facilitando su desprendimiento. Estos productos presentan un alto coste de producción y su efectividad está limitada en función de sus condiciones de aplicación.

Betelgeux, en colaboración con la Universidad Complutense de Madrid y el centro tecnológico AINIA, ha desarrollado una gama de productos de base exclusivamente química específicamente diseñados para la eliminación de biofilms en superficies (**BETELENE BF**) y circuitos (**BETELENE BF EC**) de una forma eficaz, atacando al biofilm a través de distintas vías mediante la combinación de distintos ingredientes. Estos productos contienen agentes tensioactivos, oxidantes, secuestrantes y biocidas, en proporciones optimizadas mediante estudios de diseño experimental para asegurar la mayor eficacia del formulado.

Este tipo de productos representa una novedosa solución para la eliminación de biofilms frente a los productos habituales de base enzimática, con una eficacia igual o superior a los enzimáticos, menores costes de producción y un rango más amplio de condiciones de aplicación.



El efecto de eliminación del biofilm se consigue mediante la combinación sinérgica de los distintos componentes de la mezcla. Éstos actúan de forma combinada para destruir y desprender la matriz protectora del biofilm y eliminar los patógenos presentes.

Detección

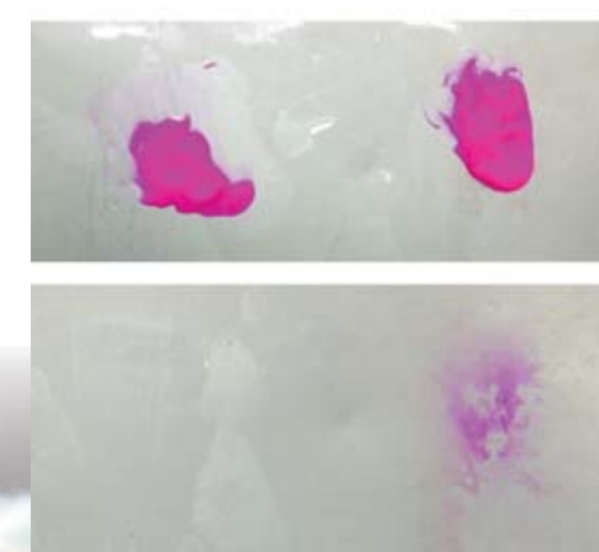
Identificación visual de biofilms en superficies

Como alternativa a los métodos tradicionales de detección de biofilms, basados en el muestreo de superficies, cultivo y recuento en laboratorio, Betelgeux ha desarrollado un formulado basado en colorantes específicos de la matriz del biofilm. Mediante su aplicación en forma de espuma, se pueden detectar por simple inspección visual zonas en las que existe biofilm, ya que éstas quedan coloreadas tras el aclarado de la espuma.

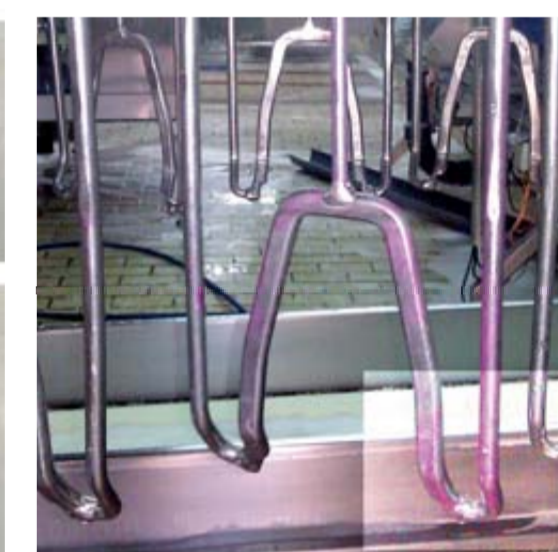
Este innovador producto (**TBF 10**) se presenta en un formato fácilmente transportable y listo para su utilización inmediata, suponiendo una herramienta muy útil para el control de las condiciones higiénicas de las superficies.



Formato de presentación del producto para detección de biofilms TBF 10, junto a una muestra de la espuma generada sobre una superficie de acero inoxidable.



Mitad superior: Plancha de acero inoxidable para transporte de pescado crudo sobre la que se ha aplicado TBF 10 después de las operaciones de limpieza y desinfección. La zona de la izquierda ha sido previamente fregada a mano.
Mitad inferior: En la misma plancha se observa que, tras el aclarado de la espuma, existen restos de biofilm en la zona no fregada manualmente.



Ganchos de colgado de aves en matadero tras la operación de limpieza habitual. Después de la aplicación del producto TBF 10 se observan restos de biofilm en las superficies.



El mismo gancho, tras su limpieza con BETELENE BF, no presenta restos de biofilm tras la aplicación de TBF 10.

Resultados de eficacia:

Ensayos realizados sobre cupones de acero inoxidable sobre los que se cultivó un biofilm de *Pseudomonas fluorescens* mediante la inmersión de los cupones en medio de cultivo (10^3 - 10^4 ufc/mL) e incubación a 20 °C durante 24 h con agitación orbital constante.

Posteriormente, los cupones se lavaron para desprender células sueltas y se sumergieron en las soluciones de limpieza (5% p/p de detergente en agua) durante 5 min a 20 °C.

Producto	log ufc/cm ²	Reducción población (log)	Biomasa desprendida (%) (sin energía mecánica)
Control	7,47 ± 0,49		0
Betelene BF	Ausencia	7,47	54 ± 2
Betelene BF EC	Ausencia	7,47	55 ± 10



Imagen zenital de microscopía confocal de un biofilm de *Pseudomonas fluorescens* antes de su tratamiento. Las células vivas están teñidas de verde y las muertas de rojo.

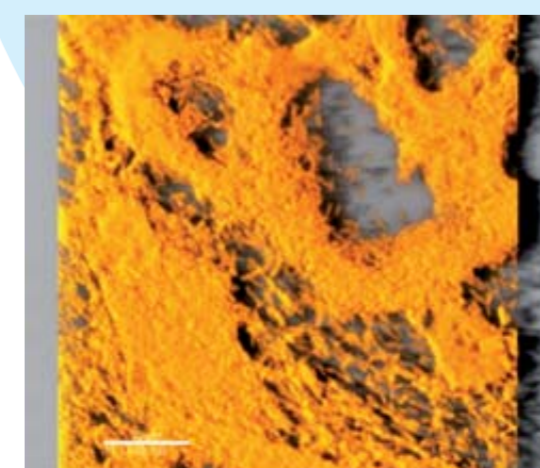


Imagen del biofilm tras 5 min de inmersión en una solución al 5% de Betelene BF a temperatura ambiente.



Imagen del biofilm tras el aclarado de la superficie utilizando agua a presión de red (3b) durante 6 s.