

El control de la contaminación por patógenos de los alimentos resulta primordial para garantizar la seguridad y calidad de los mismos, así como para prevenir infecciones tóxico-alimentarias que pueden afectar a los trabajadores y al público en general. Entre los patógenos alimentarios, las infecciones causadas por *Salmonella* representan un serio problema de salud pública a nivel mundial. Las infecciones por *Salmonella* representan más del 50% de los casos en Europa, con más de 20.000 infecciones en humanos y 23 muertes detectadas en 2006 (1). Aunque en la mayoría de casos las intoxicaciones por *Salmonella* no son graves y son tratadas de forma efectiva con antibióticos como las fluoroquinolonas, estas infecciones pueden ser muy graves en ancianos y pacientes inmunodeprimidos. La principal vía de infección por *Salmonella* en humanos es la ingesta de alimentos derivados del pollo y el cerdo, especialmente si éstos están indebidamente cocinados (2).

Recientemente, se ha identificado la emergencia de un serotipo de *Salmonella enterica*, denominado *Salmonella* Kentucky, como causante de intoxicaciones en diversos países de la Unión Europea (3). *S. Kentucky* presenta una mayor resistencia a antibióticos que otros se-

Salmonella Kentucky: un patógeno alimentario emergente y su control mediante desinfectantes

Fernando Lorenzo,
Enrique Orihuel,
Marisa Catalá,
Nuria de la Fuente

Departamento Técnico y de Investigación
Betelgeux, S.L.
betelgeux@betelgeux.es
www.betelgeux.es

Resumen

El patógeno alimentario *Salmonella enterica* serotipo Kentucky es un microorganismo emergente asociado con un número creciente de infecciones tóxico-alimentarias en los últimos años. Este patógeno es causa de gran preocupación debido a su elevada resistencia a antibióticos de amplio espectro, lo que facilita su prevalencia. Con el objetivo de identificar potenciales limitaciones de los procesos de desinfección habitualmente empleados, se ha evaluado la eficacia biocida de una serie de desinfectantes frente a cepas de *S. Kentucky*. Estos desinfectantes contienen una amplia variedad de sustancias activas biocidas con el fin de identificar relaciones entre la eficacia biocida y el mecanismo de actuación de las mismas. Los resultados obtenidos muestran que todos los desinfectantes ensayados eliminan de forma eficaz *S. Kentucky*, a concentraciones del 1% y tiempos de contacto de 5 minutos. Por lo tanto, esta bacteria no presenta dificultades especiales para su control en las instalaciones de la industria alimentaria mediante los procedimientos de higiene habituales.

rotipos de *Salmonella*, especialmente frente a derivados de fluoroquinolonas como ciprofloxacino, enoxacino y ofloxacino (4), de uso habitual para el control de este patógeno (5).

Asimismo, otros estudios sugieren que cambios en el genotipo de *S. Kentucky* son responsables de que este serotipo presente una mayor virulencia en la infección subcutánea de los animales y una mayor capacidad para colonizar el intestino grueso de los animales infectados (6). A pesar de que *S. Kentucky* ha sido asociada a la carne de ave desde hace varias décadas (7), hasta hace unos

años no se había identificado como responsable de infecciones en humanos. Sin embargo, el aislamiento de este patógeno en otros entornos como los alimentos para perros (8) y un incremento en los casos de enfermedades en humanos relacionadas con *S. Kentucky* (9), han llevado a que, actualmente, el control de este patógeno sea una gran causa de preocupación. En algunos casos, esta preocupación llega hasta el extremo de ser considerada una "superbacteria" en los medios de comunicación (10), lo que alienta la necesidad por parte de las industrias alimentarias de implantar medidas adecuadas para el control de *S. Kentucky*.

Las operaciones de limpieza y desinfección juegan un papel fundamental para el control de microorga-





	QUACIDE MC7	DECTOCIDE A30	DECTOCIDE VA15	DECTOCIDE SB5
Cloruro de didecildimetilamonio CAS: 68424-85-1				
Cloruro de benzalconio CAS: 7173-51-5				
Bis(3-aminopropil)-dodecilamina CAS: 2372-82-9				
Glutaraldehído CAS: 111-30-8				
Propan-2-ol CAS: 67-63-0				

Tabla 1.- Relación de productos desinfectantes y sus materias activas biocidas cuya eficacia biocida frente a *S. kentucky* ha sido evaluada.

nismos patógenos en las industrias alimentarias. Generalmente, tras la fase de la limpieza de las instalaciones se procede a una etapa de desinfección en la que se emplean productos específicamente diseñados para este uso. Los desinfectantes empleados se basan en diversas sustancias activas biocidas que presentan distintos mecanismos de actuación para la eliminación de microorganismos. Ejemplos de estas sustancias biocidas son:

- Sales de amonios cuaternarios de cadena alquílica. Los más empleados son el cloruro de didecildimetilamonio y el cloruro de alquildimetilbencilamonio (cloruro de benzalconio). Estos compuestos son ampliamente empleados debido a su elevada estabilidad, baja corrosividad, ausencia de olor y color y baja toxicidad (11). Actúan a nivel de membrana celular, disociándola e induciendo la fuga de contenido celular. Los compuestos de amonio cuaternario son biocidas de amplio espectro efectivos frente a bacterias (especialmente Gram+) y algunos virus y hongos.
- Alcohol isopropílico (propan-2-ol). Rápido efecto biocida de amplio espectro frente a bacterias, virus y hongos, especialmente en combinación con amonios cuaternarios o aminas. Actúa mediante degrada-

ción de la membrana celular y desnaturalización de las proteínas, interfiriendo con el metabolismo de la célula e induciendo su lisis (12).

- Glutaraldehído. Es un biocida de gran efectividad frente a un amplio espectro de bacterias, esporas, hongos y virus. Actúa mediante fuerte asociación con las paredes celulares externas, causando el entrecruzamiento de grupos amino en las proteínas e inhibiendo los procesos de transporte al interior de la célula y la actividad enzimática (12).
- Poliaminas grasas. Sustancias biocidas efectivas a bajas concentraciones, de baja toxicidad y corrosividad y estables en un amplio rango de pH. Presentan un amplio espectro de actividad bactericida y fungicida, inclu-

so en presencia de materia orgánica. Actúan a nivel de pared celular. Con el objetivo de determinar la validez de los productos y técnicas de desinfección empleados actualmente en las industrias alimentarias, se evaluó la capacidad biocida de diversos desinfectantes fabricados por Betelgeux frente a *S. Kentucky*. Estos desinfectantes son habitualmente empleados en industrias avícolas y otras industrias alimentarias para el control de patógenos, y contienen diferentes sustancias activas biocidas, de manera que este estudio permite también identificar posibles diferencias de eficacia derivadas de los distintos métodos de actuación de estas sustancias biocidas.

Metodología experimental

Para los ensayos de eficacia biocida se seleccionaron productos desinfectantes compuestos por diferentes materias activas biocidas, cubriendo un amplio rango de ingredientes habituales en los desinfectantes empleados en las industrias alimentarias. Los productos ensayados y las materias activas principales que los componen se muestran en la tabla 1. Cepas del patógeno *Salmonella Kentucky* fueron recogidas en granjas e instalaciones avícolas e incubadas a 37 ± 1 °C para su empleo en los ensayos.

Suspensión inicial		Producto ensayado	Recuentos tras 5 minutos de contacto a la concentración 1% (V/V)		Reducción logarítmica
Recuento 1	Recuento 2		Recuento 1	Recuento 2	
3,3x10 ⁸	3,3x10 ⁷	Bis(3-aminopropil)-dodecilamina DECTOCIDE A30	0	0	>7,0
		Amonios cuaternarios QUACIDE MC7	0	0	>7,0
		Propan-2-ol DECTOCIDE VA15	0	0	>7,0
		Amonio cuaternario, Glutaraldehído DECTOCIDE SB5	0	0	>7,0

Tabla 2.- Resultados de recuentos obtenidos en los ensayos de los distintos desinfectantes frente a *S. kentucky*.

Los ensayos de eficacia biocida fueron realizados por el laboratorio Control Microbiológico, S.L., acreditado por ENAC (90/LE1250) para la realización de ensayos de productos químicos biocidas.

Los ensayos se llevaron a cabo según las especificaciones de la norma UNE-EN 1276:2010/AC:2010 (13) mediante el método de dilución-neutralización, empleando como neutralizador una solución de lecitina (3 g/L), Tween 80 (30 mL/L), tiosulfato sódico (5 g/L) y L-histidina (1 g/L) en tampón fosfato 0,0025N.

Durante el ensayo, se empleó agua dura (300 ppm CaCO_3) como diluyente, así como albúmina bovina (0,3 g/L) como sustancia interferente. La temperatura del ensayo fue de $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ y se emplearon tiempos de contacto de 5 minutos. En todos los casos, los productos se ensayaron a concentraciones del 1% (V/V).

Resultados

Las suspensiones de ensayo empleadas presentaron valores de población de *S. Kentucky* entre $3,3 \times 10^7$ y $3,3 \times 10^8$ ufc/mL. Todas las muestras ensayadas, con concentración del desinfectante del 1% (V/V) y tiempo de contacto de 5 minutos, dieron lugar a la inactivación completa de los microorganismos presentes, ya que no se obtuvieron recuentos en las muestras tratadas.

La tabla 2 recoge los resultados obtenidos en los ensayos.

Conclusiones

La norma UNE-EN 1276 exige una reducción logarítmica superior a 5 de la población del patógeno estudiado para confirmar la eficacia biocida del producto ensayado. Todos los productos empleados en este estudio han superado esta norma, obteniendo valores incluso más altos de reducción de la población de *S. Kentucky*, en condiciones “suaves” de aplicación (baja concentración de



producto y temperatura ambiente). Los productos ensayados contienen diferentes sustancias activas biocidas habituales en las operaciones de desinfección en industrias alimentarias, que presentan una amplia variedad de mecanismos de actuación para la inactivación de patógenos, actuando sobre la pared celular, la membrana citoplasmática o el citoplasma.

Mediante este estudio se ha comprobado que el patógeno *Salmonella* Kentucky no presenta una resistencia especial a las sustancias activas y desinfectantes que

Betelgeux ofrece para las operaciones de desinfección en la industria alimentaria. De hecho, en los ensayos realizados se han obtenido reducciones de población de *S. Kentucky* en algunos casos superiores a las obtenidas frente a otros patógenos ensayados durante la validación de desinfectantes para industria alimentaria, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus hirae*.

S. Kentucky es un patógeno emergente debido a su resistencia a los antibióticos de uso habitual, así co-



mo a diversos cambios genéticos que potencian su virulencia y capacidad de supervivencia, por lo que resulta necesario implementar medidas de control adecuadas para minimizar el riesgo de contaminación en los alimentos y personas.

Los resultados obtenidos en este estudio indican que las operaciones de higiene en las instalaciones de las industrias alimentarias, empleando los productos ensayados en el estudio, resultan un arma eficaz para controlar este patógeno y evitar problemas de contaminación cruzada y riesgos sanitarios. Estas operaciones de higiene deben complementarse con un adecuado control del patógeno en origen, es decir, en los animales portadores, durante su cría y almacenamiento.

Sobre Betelgeux

Betelgeux, S.L. es una empresa dedicada al control de la higiene en las industrias alimentarias, cosméticas y farmacéuticas. Con más de 25 años de experiencia, somos fabricantes de detergentes y desinfectantes de uso industrial. Ofrecemos un servicio de higiene integral que incluye la monitorización de los procesos de limpieza y desinfección y la evaluación del estado higiénico de las instalaciones. En nuestro afán innovador, trabajamos para ofrecer nuevas soluciones para la mejora de procesos de limpieza y el control de la presencia de patógenos, mediante nuevos productos y nuevas tecnologías.

Bibliografía

1.- The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses, Zoonotic Agents, Antimicrobial Resistance and Foodborne Outbreaks in the European Union in 2006. The EFSA Journal (2007); 130.
2.- Majowicz, SE. et al. The global burden of

La norma UNE-EN 1276 exige una reducción logarítmica superior a 5 de la población del patógeno estudiado para confirmar la eficacia biocida del producto ensayado. Todos los productos empleados en este estudio han superado esta norma, obteniendo valores incluso más altos de reducción de la población de *S. Kentucky*, en condiciones “suaves” de aplicación (baja concentración de producto y temperatura ambiente)

nontyphoidal *Salmonella* gastroenteritis. Clinical Infectious Diseases (2010); 50:882-889.

3.- Le Hello, S. et al. International Spread of an Epidemic Population of *Salmonella* enterica Serotype Kentucky ST198 Resistant to Ciprofloxacin. The Journal of Infectious Diseases (2011); 204:675-684.

4.- Weill, F.X. et al. Ciprofloxacin-resistant *Salmonella* Kentucky in travelers. Emergent Infectious Diseases (2006); 12:1611-2.

5.- Angulo, F.J. et al. Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella*: implications for the use of fluoroquinolones in food animals. Microbial Drug Resistance (2000); 6:77-83.

6.- Johnson, T.J. et al. Horizontal Gene Transfer of a ColV Plasmid has resulted in a Dominant Avian Clonal Type of *Salmonella* enterica Serovar Kentucky. PLoS One (2010); 5(12):e15524.

7.- Edwards, P.R. A new *Salmonella* type: *Salmonella* Kentucky. Journal of Hygiene (London) (1938); 38:306-308.

8.- Leonard, E.K. et al. Evaluation of pet-related management factors and the risk of *Salmonella* spp. Carriage in pet dogs from volunteer house-

holds in Ontario. Zoonoses Public Health (2011); 58(2):140-149.

9.- US Department of Health and Human Services. CDC *Salmonella* Surveillance: Annual Summary, CDC (2006).

10.- <http://www.bbc.co.uk/news/health-14386654>; <http://www.nhs.uk/news/2011/08Aug/08Aug/Pages/kentucky-drug-resistant-salmonella-epidemiology.aspx>; <http://www.actualidadavipecuaria.com/noticias/nace-una-superbacteria-la-salmonella-kentucky.html>

11.- Orihuel, E. El Uso de las Sales de Amonio Cuaternario en la Industria Alimentaria. Alimentación, Equipos y Tecnología (1991); octubre:125-131.

12.- McDonnell, G., Russell, D. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action and Resistance. Clinical Microbiology Reviews (1999); 12(1):147-179.

13.- UNE-EN 1276:2010/AC:2010. Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida de los antisépticos y desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad. Método de ensayo y requisitos (fase 2, etapa 1).