

Irene Ruiz Marqués y Valeria Gironella Coco

Tutores: Pilar Truchado, Natalia Hernández Acosta y Ana Alicia Sánchez

## Introducción

La industria agroalimentaria utiliza grandes volúmenes de agua para el lavado de frutas y hortalizas. Para reducir el consumo de agua, la misma agua de lavado se reutiliza para lavar muchos kilos de producto fresco, lo que incrementa la concentración de materia orgánica y microorganismos del agua. Para mantener la calidad microbiológica de las aguas de lavado y evitar la contaminación cruzada entre distintos lotes de producto, se utilizan distintos tratamientos de desinfección como el cloro. El cloro tiene una acción antimicrobiana pero también puede causar un estrés que va a inducir un cambio en el estado metabólico de las bacterias, pasando a un estado viable pero no cultivable (VBNC). Las VBNC no pueden cuantificarse por métodos convencionales de recuento en placa, y son varias las técnicas moleculares que se han propuesto para su recuento.

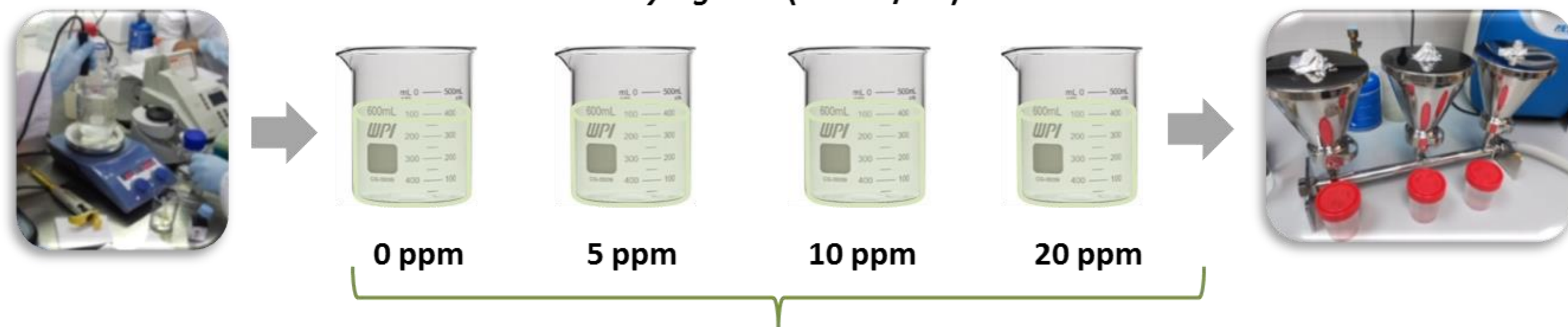
## Objetivos

- Cuantificar la actividad antimicrobiana del hipoclorito de sodio (NaClO) en agua de proceso en base a los recuentos en placa.
- Evaluar comparativamente la capacidad de dos técnicas moleculares para diferenciar entre bacterias VBNC y cultivables:
  1. Propidio de monoazida (PMA) en combinación con qPCR (PMA-qPCR).
  2. Sodio desoxicolato (DC) más PMA en combinación con qPCR (DC+PMA-qPCR).

## Materiales y Métodos

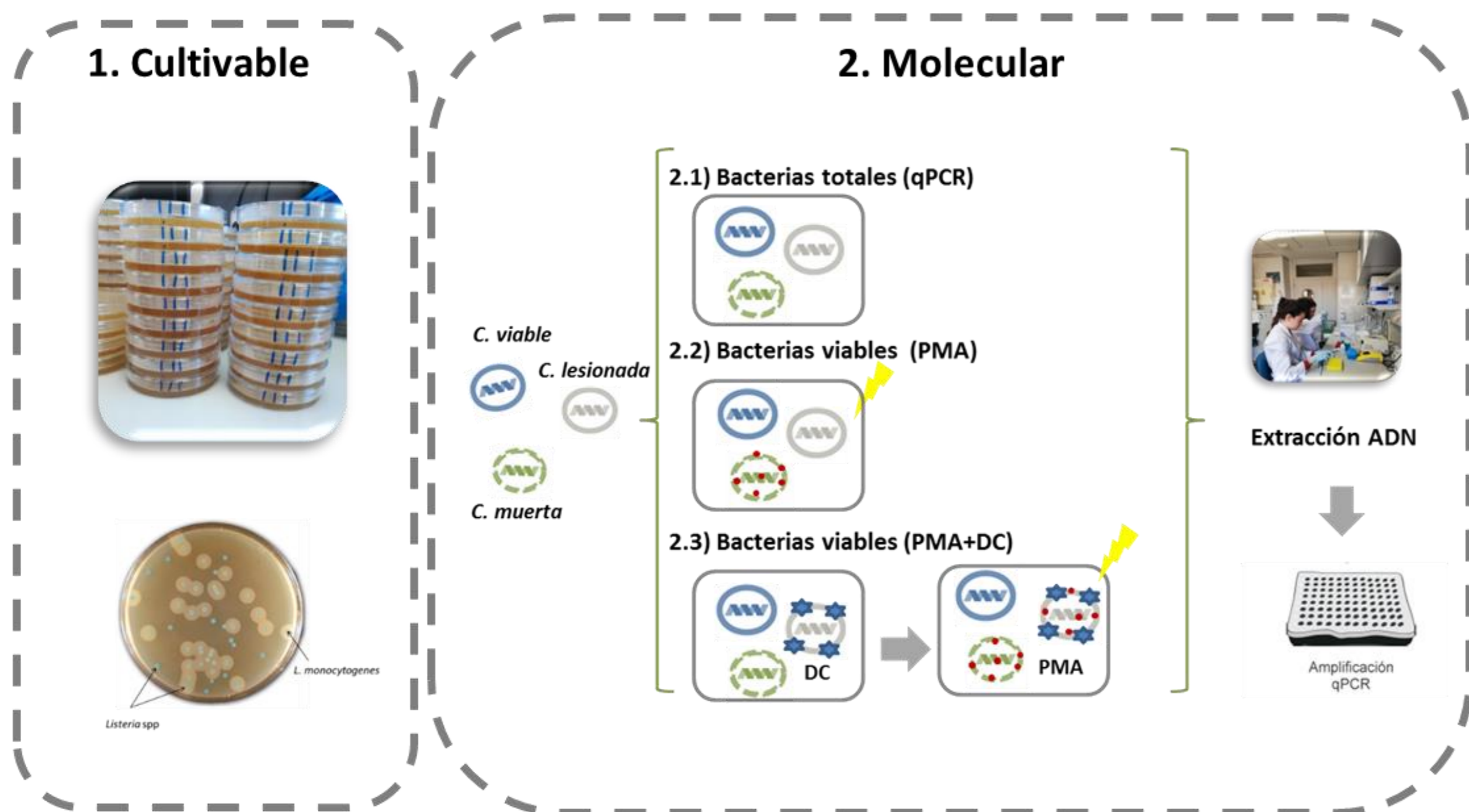
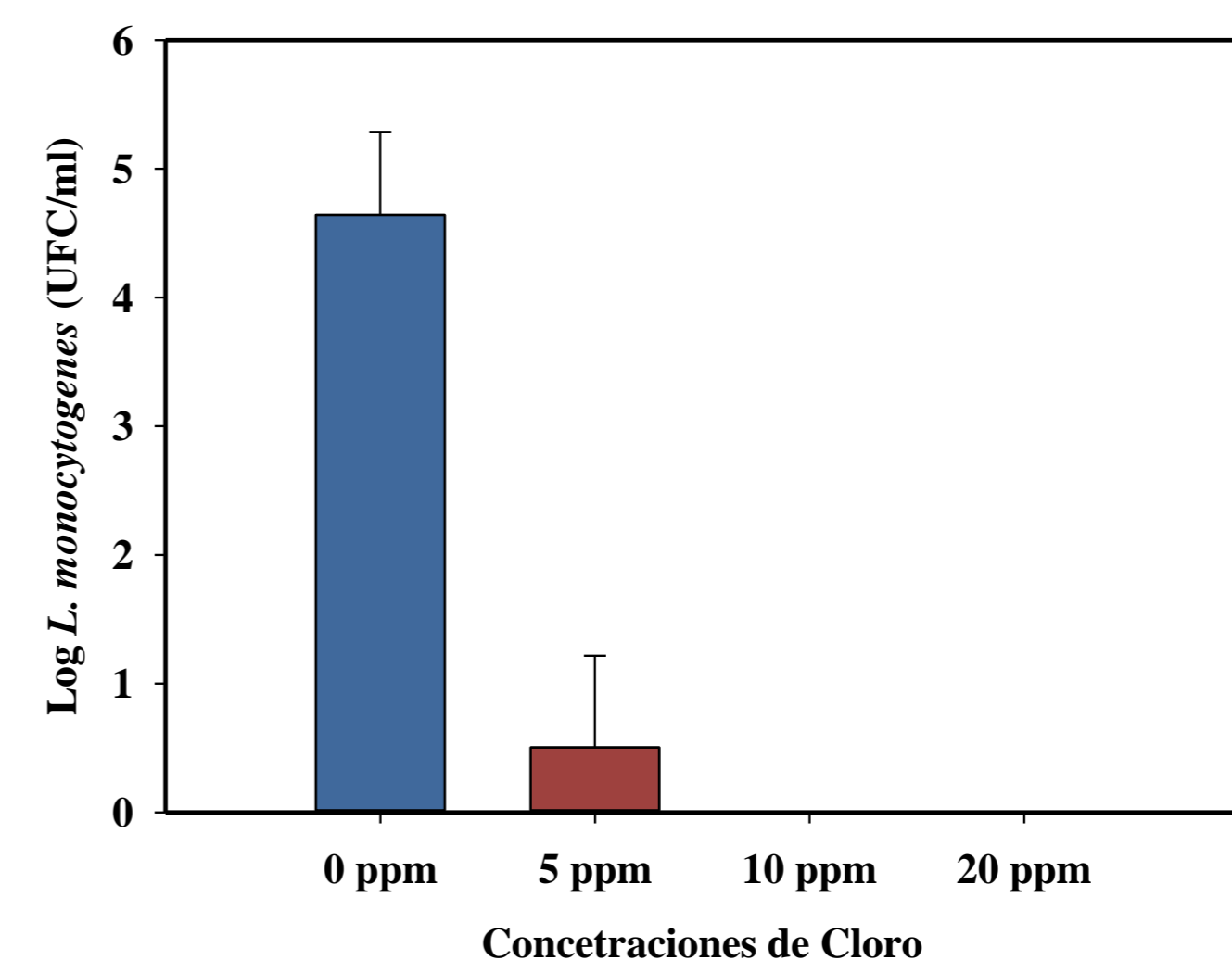


*L. monocytogenes* ( $10^5$  cfu/mL)

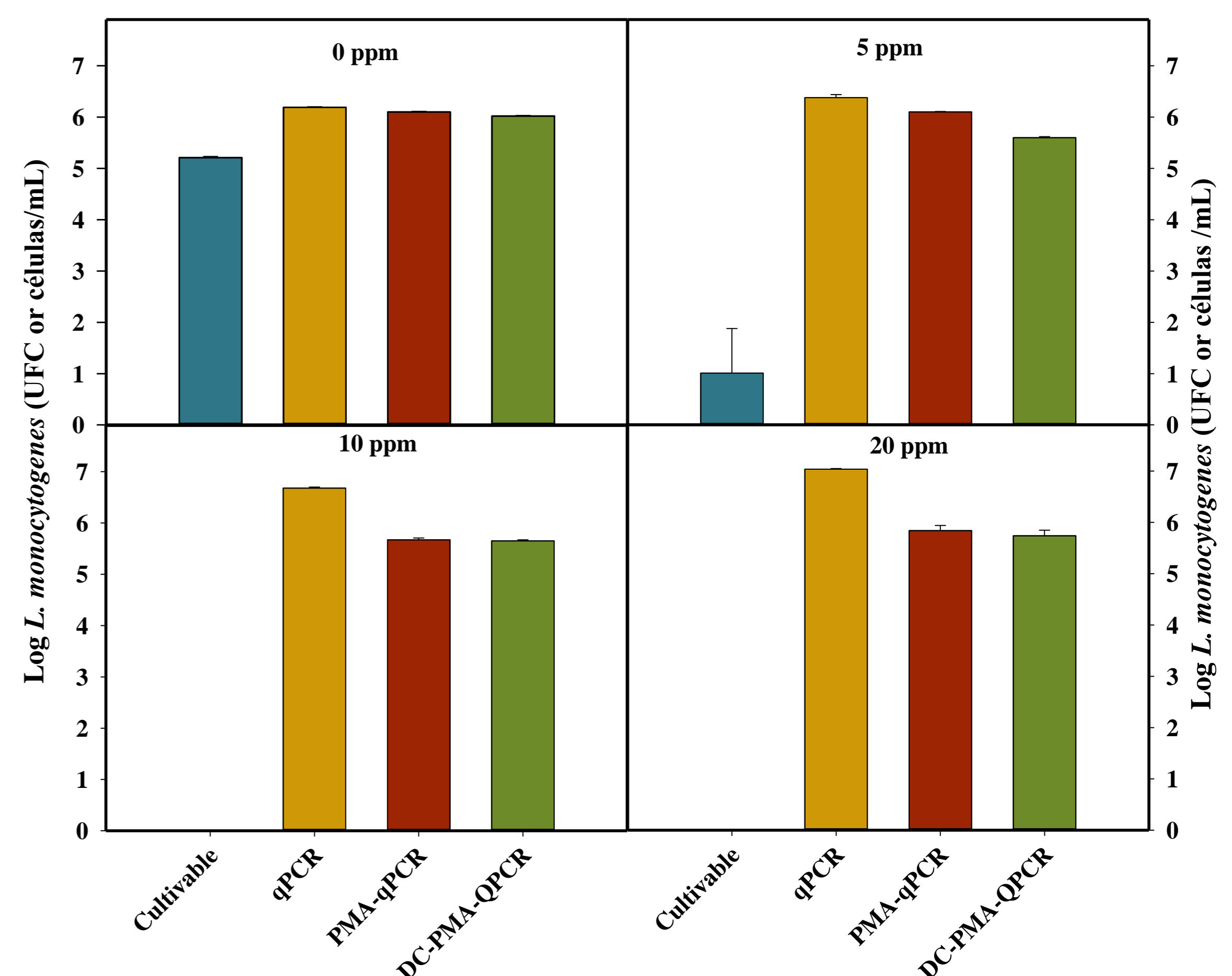


## Resultados

Los recuentos en placa confirman que concentraciones de cloro superiores a 10 ppm son capaces de inactivar  $10^5$  cfu/mL de *L. monocytogenes* en agua de proceso.



El uso de las técnicas moleculares PMA-qPCR y DC+PMA-qPCR han demostrado que el cloro induce el estado VBNC en *L. monocytogenes*, por lo que los recuentos en placa sobreestiman la eficacia del desinfectante.



La comparativa realizada entre las dos técnicas mostraron que tanto el PMA-qPCR, como el DC+PMA-qPCR pueden utilizarse indistintamente para la cuantificación de células VBNC.

## Conclusión

Las concentraciones de NaClO ensayadas, 5, 10 y 20 ppm reducen en 0,5, 1,1 y 1,2 unidades logarítmicas los niveles del patógeno en el agua de proceso. Por lo tanto más estudios que determinen la eficacia "real" de los desinfectantes son necesarios.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido financiado por el proyecto CPS-2019-01