

## EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE UN DESINFECTANTE FRENTE A UN BIOFILM DE *Pseudomonas Aeruginosa*

### Objetivo del ensayo

Este ensayo puede ser utilizado para evaluar y comparar la eficacia de desinfectantes que habitualmente deben hacer frente a los microorganismos incorporados en un biofilm como por ejemplo los que se utilizan en circuitos de productos sanitarios o máquinas de limpieza y desinfección, en los procedimientos de sanitización de instalaciones hidrotermosanitarias o instalaciones para la generación y distribución de agua purificada y ultra pura en plantas farmacéuticas.

Mediante este ensayo se evalúa la **eficacia biocida del desinfectante y la reducción de biomasa frente a un biofilm estándar**. También se puede adaptar el diseño experimental para evaluar la eficacia de tratamiento con desinfectante para la **prevención de la formación del biofilm**.

### Interesados

Fabricantes de desinfectantes, de productos sanitarios, así como usuarios que quieran validar los tratamientos de desinfección en sus sistemas.

### Norma de referencia

CEN ISO/TS 15883-5:2005 "Washer-disinfectors-Part 5: Test soils and methods for demonstrating cleaning efficacy. ANNEX F "Test soil method for flexible endoscope".

### Principio del método

Se ha desarrollado un sistema para la generación de un biofilm estándar que permite **evaluar la acción de diferentes sistemas de prevención y/o eliminación del biofilm** en cuanto a reducción de células viables y reducción de biomasa bacteriana.

El método consiste en la formación de un biofilm estándar de *Pseudomonas aeruginosa* en el interior de un tubo de teflón, utilizando un sistema dinámico para simular mejor las condiciones reales y su posterior tratamiento con el producto a ensayar para evaluar la capacidad de éste de eliminar o reducir el biofilm, evaluando la recuperación de microorganismos cultivables y la cantidad de biomasa (proteínas y polisacáridos) adheridos al soporte utilizado para la formación del biofilm antes y después del tratamiento.

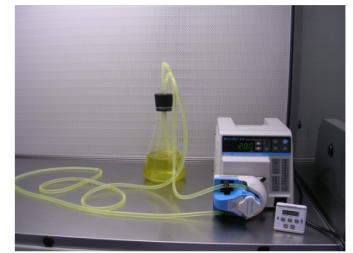
En el mismo sistema experimental se pueden utilizar otros tipos de soportes (silicona, acero, PVC, etc) y el diseño de las condiciones experimentales puede ser adaptado para **comparar la eficacia de productos** en cuanto a su capacidad para prevenir la formación del biofilm.

### Microorganismo

*Pseudomonas aeruginosa* CIP A22

### Procedimiento experimental

En la primera fase del ensayo mediante un sistema dinámico alimentado por dos bombas peristálticas, se reproduce un biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* en el interior de un tubo de teflón utilizando un método desarrollado en nuestro laboratorio, basado en la norma CEN ISO/TS 15883-5:2005 Anexo F.



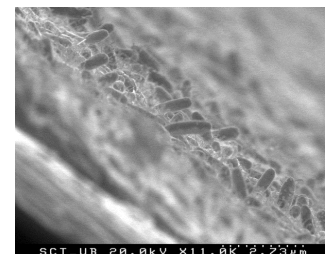
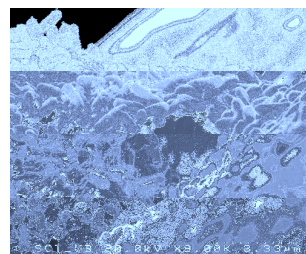
Una parte del tubo de teflón, donde se ha formado el biofilm, se analiza para la caracterización del biofilm inicial (Condición Control). Otra parte del tubo se somete al tratamiento con el producto de ensayo en las condiciones de temperatura, tiempo de contacto y flujo establecidas y, al final del tratamiento, se analiza este fragmento de tubo para evaluar la reducción de células cultivables adsorbidas al tubo y la reducción en biomasa (cantidad total de proteínas y polisacáridos).

### Expresión de los resultados

Comparación antes y después del tratamiento de los siguientes parámetros:

- recuento total de microorganismos (ufc/cm<sup>2</sup> de tubo)
- cantidad de proteínas totales (µg/ cm<sup>2</sup> de tubo)
- caracterización molecular – polisacáridos (presencia/ausencia en el espectro FT-IR)
- observación en el FE-SEM (fotos)

La comparación de resultados permite calcular la reducción logarítmica en el número de células cultivables y la reducción en la cantidad de biomasa total.



Las fotos al FE-SEM permiten evidenciar la morfología del biofilm presente en la superficie del material de ensayo para el estudio de su formación, eliminación o persistencia.

Contacto: Pilar Visa

Tel. +34 93 402 0576 · PilarVisa@eurofins.com

