



Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos. 2 (1): 187-201. Enero-Junio, 2011
http://www.rvcta.org
ISSN: 2218-4384 (versión en línea)
© Asociación RVCTA, 2011. RIF: J-29910863-4. Depósito Legal: ppi201002CA3536.

Revisión

Valoración de desinfectantes mediante el método dilución-neutralización en cepas de *Salmonella* spp. aisladas en plantas de beneficio porcino

Assessment of disinfectants by dilution-neutralization method in strains of
Salmonella spp. isolated of pork slaughterhouse

Andrea Paola **Rodríguez Triviño**¹, Andrés Camilo **Correa Núñez**¹, Martha Cecilia **Suárez Alfonso**²,
Jairo Humberto **López Vargas**^{3*}

¹Departamento de Ciencias para la Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia,
Programa Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

²Departamento de Ciencias para la Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia,
Programa Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

³Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), Sección Carnes,
Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá.

*Autor para correspondencia: jhlopezv@unal.edu.co

Aceptado 07-Julio-2011

Resumen

La salmonelosis es una enfermedad muy importante, causante de problemas de salud pública ya que produce fiebres entéricas, gastroenteritis, bacteriemia, infecciones localizadas y estado de portador crónico, además se han informado como fuentes de contaminación los huevos, las carnes y la leche, tres de los alimentos más importantes consumidos por las personas. Por tal razón es importante determinar en la industria de los alimentos la susceptibilidad de *Salmonella* spp. a los desinfectantes, con el fin de contribuir a elaborar programas de prevención y control de este microorganismo, haciéndose necesaria la evaluación de su acción en cepas de *Salmonella* spp., en especial sobre aquellas transmitidas por los alimentos, además se debe medir la eficacia de los tipos de desinfectantes mediante

el ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida, en especial cuando a futuro se tenga como objetivo, evaluar el uso de desinfectantes en cepas de *Salmonella* spp. aisladas de plantas de beneficio porcino. Así que una vez se seleccionen las plantas de beneficio porcino objeto de la medición, en éstas se debe aislar una cantidad representativa de cepas de *Salmonella* spp., para someterlas a los diversos tipos de desinfectantes. El objetivo de la presente revisión es comparar la eficacia de tipos de desinfectantes que cuentan con un principio activo de amonio cuaternario y ácido peracético. Esperando que en futuros ensayos, por el método a nivel *in vitro* se puede comprobar la eficacia de los mismos.

Palabras claves: desinfectantes, planta de beneficio porcino, *Salmonella* spp.

Abstract

The salmonellosis is a very important disease, cause of problems of public health since it produces enteric fevers, gastroenteritis, bacteremia, located infections and state of chronic carrier, in addition the eggs, the meats and milk, three of the most important foods consumed by the people have inquired like contamination sources. For such reason is important to determine in the industry of foods the susceptibility of *Salmonella* spp. to disinfectants, with the purpose of to contribute to make programs of prevention and control of this microorganism, becoming necessary the evaluation of its action in stocks of *Salmonella* spp., especially on those transmitted by foods, in addition is due to measure the effectiveness of the types of disinfectants by means of the quantitative test of suspension for the evaluation of the bactericidal activity, especially when to future like objective, is going away to evaluate the disinfectant use in stocks of *Salmonella* spp. isolated of pork slaughterhouse. So once they are selected the pork slaughterhouse object of the measurement, in these is due to isolate a representative amount of stocks of *Salmonella* spp., to put under them the diverse types of disinfectants. The objective of the present revision is to compare the effectiveness of types of disinfectants that count on active principle of quaternary ammonium and peracetic acid. One hopes that in future tests, by the standard *in-vitro* method can check their effectiveness.

Key words: disinfectants, pork slaughterhouse, *Salmonella* spp.

INTRODUCCIÓN

La *Salmonella* spp. es uno de los mayores problemas de la industria de los alimentos, debido a que afecta su inocuidad, incrementando el riesgo de ocasionar infecciones alimentarias en humanos, y la transmisión de cepas multirresistentes a través de los alimentos. El aumento de las infecciones por *Salmonella* spp. consecuencia del consumo de alimentos de origen animal contaminados, se ha relacionado con la diseminación del microorganismo a lo largo de la cadena

productiva y con un incremento de las resistencias antimicrobianas debido principalmente al uso de antimicrobianos adicionados en los alimentos de origen animal (Padungtod y Kaneene, 2006; Morais y Rostagno, 2010). La limpieza y el uso de desinfectantes es la base principal para prevenir la contaminación (Nielsen *et al.*, 2001), sin embargo, el uso no controlado de desinfectantes también ha mostrado aumento en la resistencia microbiana a estos agentes (Little *et al.*, 2008).

Los programas de prevención y control de *Salmonella* spp. en países como Dinamarca

lograron reducir la prevalencia del 3,5 % en 1993 al 0,7 % en el año 2000 en todos los casos humanos (Lo Fo Wong *et al.*, 2002), de ahí la importancia de emplear planes efectivos que incluyan la evaluación de desinfectantes para contrarrestar de manera efectiva la presencia de *Salmonella* spp., en especial en la cadena porcícola.

El riesgo en la salud pública es debido a la posibilidad de consumo de alimentos de origen animal contaminados con *Salmonella* spp., dependiendo esto de múltiples factores, tales como, el nivel de infección adquirido en la granja porcina, higiene durante el procesamiento de la canal en el frigorífico, las condiciones de almacenamiento y de distribución de la carne y, finalmente, la manipulación de la carne de cerdo mal cocida por el consumidor (Boyen *et al.*, 2008).

La información acerca de las consideraciones técnicas sobre el uso de desinfectantes para cepas del género *Salmonella* spp. es poca y aún es más escasa en relación con las cepas aisladas en la cadena productiva porcina colombiana lo que constituye una necesidad de estudio e investigación. Para la valoración de desinfectantes se puede utilizar el método de dilución-neutralización de acuerdo con las técnicas normalizadas (AENOR, 2006; ICONTEC, 2007). Los productos pueden ensayarse únicamente a una concentración igual o inferior al 80 % utilizando un neutralizante; para detener la actividad bactericida durante el ensayo. El desinfectante debe demostrar una reducción logarítmica no inferior a 5 unidades (10^{-5}) durante mínimo 5 min a temperatura de 20 °C (Álvarez-Alcántara *et al.*, 2001).

El objetivo de esta revisión fue dar a conocer la evaluación de la eficacia de diversos desinfectantes de uso común que cuentan con un principio activo de amonio cuaternario y ácido peracético en plantas de beneficio, sobre cepas de *Salmonella* spp. aisladas a partir de muestras de origen porcino.

CONTENIDO

- 1.- Generalidades
- 2.- Cadena productiva porcícola
 - 2.1.- Pre-beneficio
 - 2.2.- Beneficio
 - 2.3.- Post-beneficio
- 3.- Desinfectantes
 - 3.1.- Compuestos de amonio cuaternario
 - 3.2.- El ácido peracético (PAA, 'Peracetic acid')
- 4.- Principios de los métodos de prueba
- 5.- Método de dilución-neutralización
- 6.- Factores que condicionan la selección de los desinfectantes

REVISIÓN DE LA LITERATURA

1.- Generalidades

La salmonelosis es una enfermedad causada por bacterias del género *Salmonella* spp., algunos de estos microorganismos se encuentran exclusivamente adaptados a un hospedero como es el caso de *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi A y *Salmonella* Paratyphi C, adaptados al hombre, *Salmonella* Abortus ovis, a los ovinos; *Salmonella* Abortus equi, a los equinos y *Salmonella* Gallinarum y Pullorum, a las aves (Caffer y Terragno, 2001; Barrow y Freitas-Neto, 2011).

Las serovariedades que no tienen preferencia por algún hospedero en especial, pueden infectar tanto al hombre como a los animales. En este grupo se encuentra la mayoría de las serovariedades zoonóticas responsables de la salmonelosis no tifoidea (Caffer y Terragno, 2001; Uribe y Suárez, 2006). Los microorganismos responsables de enfermedades zoonóticas son un problema de salud pública de gran impacto económico, siendo una de las más importantes enfermedades transmitidas por alimentos (ETA), ocasionando gastroenteritis, bacteremia y posterior infección localizada (Pegues *et al.*, 2006).

Cuando se produce el sacrificio de animales clínicamente sanos, los serotipos que

portan, a nivel intestinal, pasan a las canales y persisten en productos que se consumirán sin previa cocción, así como aquellos sometidos a cocción insuficiente (di Pietro *et al.*, 2004; Barreto-Argilagos *et al.*, 2010). En Estados Unidos, la salmonelosis no tifoidea ha generado 1,4 millones de infecciones anuales (WHO, 2005) de tal forma que al analizar estos datos se observa el gran impacto de esta enfermedad en la salud humana siendo de amplia distribución, en países como Dinamarca (Nielsen *et al.*, 2001), Nueva Zelanda (Wong *et al.*, 2009), Colombia (Uribe y Suárez, 2006), Estados Unidos (Pegues *et al.*, 2006), Gran Bretaña, Vietnam y México (Boyen *et al.*, 2008), entre otros. En consecuencia, la disminución de la presencia de este microorganismo en las plantas de beneficio contribuye a la calidad del producto final y la inocuidad alimentaria como base fundamental de la competitividad de la cadena porcícola; y cabe destacar que en la dinámica de la cadena productiva es necesario, además de la inclusión de prácticas orientadas a la salud y bienestar de los cerdos, prácticas que no afecten el medio ambiente y la salud de la comunidad (Ojha y Kostrzynska, 2007).

2.- Cadena productiva porcícola

Los porcinos pueden estar en contacto con la bacteria a través de fuentes externas, como las personas, roedores, piensos, agua, entre otras. Una vez introducida, la bacteria puede extenderse en la granja o empresa y llegar a la carne de cerdo en la cadena hasta el consumidor (van der Gaag y Huirne, 2002).

La cadena productiva porcícola tiene sus respectivas fases:

- Pre-beneficio
- Beneficio
- Post-beneficio

2.1.- Pre-beneficio

Las fases que involucran el pre-beneficio

son: la producción primaria y transporte de cerdos hasta la planta de beneficio. En la producción primaria, dentro de la granja los cerdos son susceptibles a las infecciones en una amplia gama de los serotipos de *Salmonella* que constituyen una fuente potencial de exposición humana hacia la enfermedad. Una vez infectados los cerdos son un importante reservorio y fuente para la introducción y transmisión de *Salmonella* en las explotaciones porcícolas. La diseminación del microorganismo en la granja se ha relacionado con la excreción de *Salmonella* en heces (Dickson *et al.*, 2002). Si la *Salmonella* entra en una piara de cerdos, hay una posible transmisión de la enfermedad y esto se da en la mayoría de los casos, debido a los intensos contactos entre los cerdos de diferentes corrales. Además, los cerdos con frecuencia circulan entre los corrales, lo que también ayuda a la propagación de la enfermedad (De Sadeleer *et al.*, 2009). Así que el número de fuentes potenciales de infección por *Salmonella* es interminable. Se han observado fuentes de contaminación incluso en los roedores, algunos insectos, las aves y otros animales, los seres humanos y alimento contaminado (Dickson *et al.*, 2002; Funk y Gebreyes, 2004), siendo excretores activos o pasivos de *Salmonella* dentro de la explotación.

En la etapa final de engorde o acabado el animal en promedio debería de tener un peso vivo de 100 a 110 kilogramos aproximadamente. Al momento del transporte los animales están expuestos a varios puntos con riesgo de infección por *Salmonella*, además se debe tener en cuenta que algunos animales ya pueden venir excretando la bacteria desde la granja (De Sadeleer *et al.*, 2009). Se ha demostrado por una serie de estudios que un número considerable de cerdos son portadores de *Salmonella* cuando llegan a las plantas de beneficio (Dickson *et al.*, 2002); durante el transporte, los cerdos son sometidos a muchos factores de estrés, por ejemplo, el ruido, los olores, la mezcla con cerdos 'desconocidos' de otras granjas, además de factores tales como,

las altas densidades de población, la larga duración del transporte, el cambio de la temperatura ambiental y un cambio general de medio ambiente (Lo Fo Wong *et al.*, 2002). Se considera que el estrés afecta la ecología bacteriana del tracto gastrointestinal y la inmunidad del animal, lo que resulta en un aumento de *Salmonella* (Rostagno *et al.*, 2003; Rostagno, 2009).

2.2.- Beneficio

La fase de beneficio dentro de la planta involucra los siguientes procedimientos:

Insensibilización y sangría. En este punto las posibilidades de contaminación de las canales con *Salmonella* son muy bajas o se limita a las bacterias que ya están en el animal en el momento de aturdimiento o la contaminación con cuchillos que no han tenido un buen proceso de limpieza y desinfección (Dickson *et al.*, 2002).

Escaldado, depilado. Los estudios han demostrado que el proceso de escaldado reduce el número de bacterias y la incidencia de patógenos tales como *Salmonella*, por tanto se debe considerar como un punto crítico dentro de un sistema HACCP (Lo Fo Wong *et al.*, 2002; Botteldoorn *et al.*, 2003; Pearce *et al.*, 2004). La temperatura del agua usada en la operación de escaldado debe ser de 60 °C a 65 °C lo que favorece la reducción en el número de bacterias presentes en las canales porcinas (Dickson *et al.*, 2002; Hernández-San Juan *et al.*, 2007). Se requiere una eficiente combinación de temperatura y tiempo para lograr una reducción de una unidad logarítmica (1 log₁₀) de *Salmonella* spp. en el agua del tanque de escaldado (Bolton *et al.*, 2003). La acción mecánica de las máquinas de depilado puede introducir bacterias en la superficie de la piel (Dickson *et al.*, 2002) ya que la rotación de las aspas favorece la contaminación del equipo con microorganismos fecales (Lo Fo Wong *et al.*, 2002).

Flameado. La canal se pasa a través de

un túnel de flameado, reduciendo significativamente con este proceso el nivel de la contaminación superficial, a pesar de que las bacterias pueden sobrevivir en los pliegues más profundos de la piel (la base y orificios de las orejas) o en los folículos pilosos (Lo Fo Wong *et al.*, 2002; Alban y Stärk, 2005).

Pulido. Consiste en quitar el pelo quemado, restos de piel y pezuñas del animal (Alban y Stärk, 2005). En esta etapa las bacterias pueden ser redistribuidas en toda la piel del animal (Lo Fo Wong *et al.*, 2002). Se estima que del 5 al 15 % de la contaminación con *Salmonella* de todas las canales ocurre durante esta etapa en la línea de beneficio (Berends *et al.*, 1997).

Evisceración. Es una de las operaciones que tiene mayor potencial de contaminación por *Salmonella*. La contaminación fecal es difícil de evitar durante este proceso, sin embargo, esto solo resulta en contaminación con *Salmonella* si la canal proviene de un cerdo ya infectado (Hald *et al.*, 2003; Alban y Stärk, 2005), ya que antes de la evisceración se realiza un corte circular del ano y el recto que son embolsados para disminuir la contaminación por material fecal; también se remueven las partes del interior del animal, como la lengua, el esófago, la laringe, la tráquea, los pulmones, el corazón y el hígado (víscera roja) (Lo Fo Wong *et al.*, 2002; Botteldoorn *et al.*, 2003). Los intestinos contaminados o los ganglios linfáticos pueden ser una fuente primaria de contaminación de la canal durante la evisceración (Botteldoorn *et al.*, 2003), llegando incluso a suceder que se rompan accidentalmente los intestinos y se contaminen de material fecal las canales porcinas (De Sadeleer *et al.*, 2009).

Refrigeración. Este proceso reduce la temperatura en la superficie de las canales desecándola (Lawrie, 1974). La reducción en las poblaciones bacterianas se atribuye a la superficie de secado, cuando la actividad de agua cae por debajo de la mínima para el crecimiento bacteriano (Gill *et al.*, 2000; Dickson *et al.*, 2002). La refrigeración puede

ser un punto crítico, ya que evita la proliferación de bacterias en la canal caliente (Bolton *et al.*, 2002; Lenahan *et al.*, 2009). Para la aplicación exitosa de la refrigeración en el control del crecimiento de patógenos en las canales, deben establecerse límites críticos y la eficacia del proceso de enfriamiento debe validarse en cada planta (Lenahan *et al.*, 2009).

2.3.- Post-beneficio

Transformación y distribución. El corte de las canales de cerdo puede resultar en transferencia de contaminación a partir de equipos y cuchillos los cuales son un potencial de contaminación por el contacto con la piel, y luego esta contaminación puede ser transmitida a los tejidos comestibles (Dickson *et al.*, 2002). Se ha demostrado que la *Salmonella* se puede transportar en cuchillos mal esterilizados. Los cortes se realizan en las secciones habituales, como la paleta, el lomo, jamón y tocino ventral, y aun más en pedazos más pequeños. Las canales deben salir de la sala de refrigeración con una temperatura interna inferior a 7 °C (De Sadeleer *et al.*, 2009).

Consumidor. Se han realizado pocos estudios para determinar la presencia de *Salmonella* spp. en la manipulación de la carne porcina por parte del consumidor, sin embargo, se considera importante educar al consumidor acerca de cómo almacenar y cocinar la carne de cerdo (Van der Gaag, 2004). En estudios sobre la percepción de los consumidores hacia la carne porcina, Bryhni *et al.* (2002) encontraron que la característica sensorial más importante al momento de consumir carne de cerdo, fue el sabor unido a la gran variedad de platos que se pueden preparar con esta carne, teniendo en cuenta además características como la jugosidad, la ausencia de mal sabor y mal olor. Webb y O'Neill (2008), afirman que el consumo de carne de cerdo se ve afectado por factores tales como: los hábitos alimenticios, el vegetarianismo o la preferencia hacia el consumo de carne bovina. En la carne de cerdo

de buena calidad, se manejan, por parte del consumidor aspectos, tales como, la grasa de cobertura, el precio, el sitio de origen y el lugar de compra. Por otra parte, la etiqueta debe permitirle al consumidor obtener información precisa sobre precio, peso, fecha de elaboración o empaquetado y sitio de origen, siendo el último factor para el consumidor la calidad nutricional.

3.- Desinfectantes

Los desinfectantes constituyen la primera medida de control microbiano, reduciendo la carga de contaminación en objetos animados e inanimados (Rutala y Cole, 1984), además de prevenir la transmisión de enfermedades a humanos y otros animales (Poss, 1998). Las propiedades de los desinfectantes varían de acuerdo con el principio activo. Mientras algunos desinfectantes son eficaces contra determinados microorganismos, otros no; algunos son bactericidas y otros bacteriostáticos (da Costa, 1990). Estos generalmente son productos químicos, pero también pueden ser agentes de tipo físico o biológico que destruyen microorganismos patógenos.

Existen diferentes clases de desinfectantes incluyendo fenoles, compuestos de amonio cuaternario (QAC, 'Quaternary Ammonia Compounds'), halógenos, agentes oxidantes, compuestos clorados y alcoholes (Stringfellow *et al.*, 2009). Los desinfectantes actúan sobre los microorganismos en diferentes puntos objetivo resultando en la destrucción de la membrana, inhibición metabólica y lisis de la célula (Maillard, 2002). En su mayoría, los desinfectantes que se utilizan en el campo de la Sanidad Animal son productos químicos antimicrobianos o biocidas relativamente potentes y generalmente tóxicos, que se aplican sobre las superficies contaminadas, mientras que los que se utilizan en la industria agroalimentaria son por lo general menos tóxicos y también menos concentrados (Kahrs, 1995).

El uso normal de desinfectantes en la industria alimentaria se realiza de acuerdo con la recomendación internacional en principios de higiene de los alimentos, en donde se define que la desinfección es “la reducción, por medio de agentes químicos y/o métodos físicos, del número de microorganismos en el medioambiente, a un nivel que no comprometa la seguridad de los alimentos o idoneidad” (FAO/WHO, 2003). Esto se logra mediante compuestos químicos o formulaciones denominados desinfectantes. Según la normativa de la Unión Europea (EP y CEU, 1998), los desinfectantes pertenecen a la categoría de “agentes biocidas”, que también incluyen conservantes, pesticidas y sustancias antiincrustantes. Por razones de seguridad alimentaria, los desinfectantes se utilizan en las superficies para el mantenimiento de la higiene en los corrales, plantas de beneficio, industria alimentaria y los locales de equipo, tiendas, entre otros, y se aplican a canales y productos.

Los desinfectantes utilizados para destruir las bacterias afectan múltiples componentes celulares, así que tienen ‘múltiples sitios objetivos dentro de la célula microbiana’ (Maillard, 2002), ‘contienen sustancias químicas antibacterianas con una concentración suficiente para lograr afectar a múltiples microorganismos en lugar de células individuales’ (Gilbert y McBain, 2003). A diferencia de los antibióticos, que afectan un proceso fisiológico, los desinfectantes afectan a los componentes celulares (por ejemplo, proteínas, ADN, ARN y componentes de la pared celular) a través de interacciones fisicoquímicas o de reacciones químicas (McDonnell y Russell, 1999).

3.1.- Compuestos de amonio cuaternarios

La actividad de estos compuestos y sus propiedades físico-químicas, están determinadas por la longitud de sus cadenas químicas, por lo que son más eficientes contra

agentes Gram-positivos que frente a Gram-negativos. Algunos autores manifiestan que los compuestos de amonio cuaternario dodecil son más eficaces que los de cadenas hexadecil y octadecil. Por tanto es imprescindible conocer mejor el comportamiento de estos agentes en cepas de campo no estandarizadas de ovinos y porcinos (Rueda *et al.*, 2003). Con respecto al modo de acción, éstos tienen propiedades tensoactivas pero son compatibles con compuestos aniónicos, estos son de mayor eficacia a pH neutro o ligeramente alcalino. Su capacidad biocida está en la facilidad de romper la membrana celular donde se ligan irreversiblemente a los fosfolípidos; el mecanismo de acción es a través de un grupo de cabeza catiónica hacia el exterior y las colas hidrofóbicas se insertan en la bicapa lipídica causando la reorganización de la membrana y pérdida de componentes intracelulares; de la misma manera se liga a las proteínas de la membrana, deteriorando la permeabilidad selectiva. Una característica común de los QAC es su capacidad de causar fugas y daños en la membrana celular, principalmente debido a su adsorción en grandes cantidades en la membrana bacteriana. (Ioannou *et al.*, 2007).

3.2.- El ácido peracético (PAA, ‘Peracetic acid’)

Es un peróxido del ácido acético, fuerte agente oxidante con una actividad bactericida rápida frente a una serie de organismos vegetativos y esporas. También es micobactericida, virucida y fungicida. Lamentablemente el ácido peracético es corrosivo para acero, cobre, otros metales y componentes como la goma natural y sintética (Fraise, 1999). Se puede inferir que el modo de acción se basa en la liberación de oxígeno activo y funciona como otros peróxidos y agentes oxidantes. Es probable que los enlaces sensibles sulfhidrilo y azufre en las proteínas, enzimas y otros metabolitos sean oxidados y que reaccionen en los dobles enlaces. Se ha su-

gerido que el PAA interrumpe la función quimiosmótica de la membrana citoplasmática y las lipoproteínas de transporte a través de la dislocación o rotura de las paredes celulares. Entonces, podría ser eficaz contra las lipoproteínas de la membrana externa, lo que facilita su acción contra las células Gram-negativas. Intracelularmente el PAA también puede oxidar enzimas esenciales, afectando las vías bioquímicas vitales, el transporte activo a través de membranas y deteriorar los niveles intracelulares de soluto. Su acción como desnaturizante de proteínas puede ayudar a explicar sus características como esporicida y ovicida. Una ventaja adicional del PAA es que inactiva la catalasa, una enzima conocida para la descomposición de los radicales libres hidroxilo (Kitis, 2004).

El efecto biocida de PAA en bacterias fijadas a las superficies (microorganismos sésiles) es bien conocido; se ha informado que es más eficiente contra algunas cepas de *Mycobacterium chelonae* que los aldehídos. Sin embargo, se desconoce el efecto del PAA en los depósitos biológicos, y en particular, su capacidad para fijar o para eliminar las biopelículas de los materiales (Henoun-Loukili *et al.*, 2004).

4.- Principios de los métodos de prueba

La actividad *in vitro* es importante ya que permite que los desinfectantes sean seleccionados teniendo en cuenta su actividad en contra de patógenos. La mayoría de las pruebas hechas en antibióticos son determinadas por la medida de concentración mínima inhibitoria (MIC, 'Minimum Inhibitory Concentration'). Los desinfectantes se eligen por la superficie de aplicación y su amplio espectro bactericida contra agentes patógenos. Aunque las pruebas de inhibición mínima no son relevantes para determinar las concentraciones estándar para desinfectantes esta medida tiende a ser usada. La rapidez de la actividad bactericida puede ser medida y expre-

sada como un valor D o tiempo para alcanzar una reducción de cinco unidades logarítmicas ($5 \log_{10}$) de una suspensión de bacterias (Fraise, 1999).

Suspensión/pruebas de portador. Las condiciones del contacto entre el desinfectante y el organismo tienen un impacto significativo en la actividad del desinfectante. Las dos condiciones principales en pruebas *in vitro* son una mezcla de desinfectante y organismos en un líquido medio (prueba de la suspensión) y la aplicación de un desinfectante a una superficie contaminada con organismos (la prueba del portador). En la prueba de la suspensión, el desinfectante se diluye en agua estéril de dureza estándar y la suspensión bacteriana puede prepararse en agua peptonada, solución salina, en caldo o almacenador intermediario. Las dos soluciones son entonces mezcladas y, después de la neutralización del agente activo, de la suspensión se crea un subcultivo donde se establece la actividad bactericida. En la prueba del portador, la suspensión bacteriana se aplica a un portador superficie (por ejemplo, una cubeta de plástico o de acero inoxidable) y se deja secar, luego de esto el desinfectante se agrega al portador y la actividad es determinada por la neutralización, donde se realizará un conteo en cultivo (Kampf *et al.*, 2003).

Limpio/sucio. La presencia de materia orgánica puede ejercer efectos sobre la actividad de un desinfectante. Los desinfectantes tienden a tener una variación en la susceptibilidad frente al efecto neutralizante de la materia orgánica y esta por lo tanto es una parte importante de la evaluación de desinfectantes. El método más frecuentemente utilizado es el de suspensión y pruebas de portador en condiciones limpias y sucias. Regularmente para condiciones limpias se utiliza solución de albúmina de suero bovino y en condiciones sucias se usa el mismo suero bovino mas eritrocitos lavados de oveja, donde la concentración final debe estar alrededor de 10 % simulando la presencia de carga orgánica para el tratamiento control de suciedad, también

se lleva un registro en limpio y en condiciones de suciedad las cuales pueden ser comparadas (ICONTEC, 2007).

5.- Método de dilución-neutralización

El aislamiento y la serotipificación se realiza según la norma ISO 6579 (ISO, 2002), las colonias sospechosas deberán ser sembradas en el respectivo agar del cual se obtengan y sembrarse en agar tripticosa soya (TSA, 'Trypticase Soy Agar') para su posterior confirmación mediante el sistema automatizado VITEK® 2 (bioMérieux, Francia). La serotipificación de los aislamientos se debe realizar mediante la identificación de los antígenos somáticos O y flagelares H, de acuerdo al esquema White – Kauffmann – Le Minor (Grimont y Weill, 2007).

El principio se basa en la concentración mínima bactericida (CMB) ensayada capaz de reducir en cinco unidades logarítmicas ($5 \log_{10}$) una suspensión de bacterias en 5 minutos de contacto con el desinfectante a 20 °C. Para ello los procedimientos más utilizados son los test *in vitro* cuantitativos con microorganismos en suspensión y entre ellos el método de dilución-neutralización, el cual establece si un desinfectante químico que forma una preparación homogénea físicamente estable cuando es diluido y en agua tiene una actividad bactericida, para estos existe un neutralizante específico (Álvarez-Alcántara *et al.*, 2001).

Para el ensayo es necesaria una muestra del producto a evaluar en su concentración más alta. Las soluciones de ensayo deben prepararse a tres diferentes concentraciones para tener concentraciones en intervalos activos y no activos; este método parte de una suspensión bacteriana donde deben ajustarse valores de $1,5 \times 10^8$ UFC/mL y $5,0 \times 10^8$ UFC/mL mediante un diluyente (ICONTEC, 2007). El recuento se realiza mediante la preparación de diluciones seriadas, de estas se escogen las diluciones 10^{-6} y 10^{-7} de donde es tomada una muestra de 1,0 mL de cada dilución por duplicado y se inocular

utilizando la técnica de vertido en placa o de siembra en placas.

Para la prueba con el neutralizante, el desinfectante se hace reaccionar con una suspensión bacteriana en condiciones normales, la reacción es detenida con la sustancia neutralizante (Espigares *et al.*, 2003). La evaluación de la actividad bactericida de los neutralizantes debe ser realizada bajo las normas UNE-EN 1040 (AENOR, 2006) y NF T72-150 (AFNOR, 1995).

Los neutralizantes requieren una validación, por lo general mediante la mezcla del desinfectante durante 10 minutos a 20 °C, a continuación, se mezcla y se adiciona a una suspensión bacteriana, donde transcurridos 5 minutos, se mezcla la muestra, y el recuento se realiza mediante siembra en placa por duplicado donde se efectúa el recuento de las placas y se determina el número de unidades formadoras de colonias (UFC), y este se compara con el inóculo inicial. No debe haber una reducción mayor al 50 % en el número de bacterias comparado con el inóculo inicial. La prueba del neutralizante también puede ser utilizada para probar la influencia de sustancias interferentes, tales como materia orgánica, jabón o iones (Álvarez-Alcántara *et al.*, 2001; AENOR, 2006; ICONTEC, 2007).

La actividad de un desinfectante depende del tipo de microorganismo que se pretenda combatir, de su modo de reproducción, de su resistencia en el medio ambiente y de las sustancias químicas utilizadas. Además de esto la elección deberá estar guiada al espectro de su actividad, su eficacia y su sensibilidad a la inactivación en presencia de materia orgánica (Markey y Quinn, 2005). Otros puntos a tener en cuenta son el tiempo de contacto requerido, temperatura óptima, su actividad residual, su actividad corrosiva, los efectos ambientales y el costo del producto a utilizar.

Los biocidas pueden ejercer efectos bacteriostáticos y bactericidas, aunque el mecanismo de la acción es diferente. Con la

actividad bacteriostática generalmente se presenta una cierta lesión metabólica que es reversible sobre retiro o la neutralización del biocida (Denyer, 1995) mientras que en los resultados de la acción bactericida el daño es irreparable e irreversible en una estructura o en una función celular vital. La acción biocida se puede dar a través de las interacciones físico-químicas con las estructuras microbianas, reacciones específicas con moléculas biológicas o alteración de algunos procesos metabólicos o energéticos.

Las etapas entre el biocida y la bacteria presentan una serie de interacciones las cuales son: la captación de biocida por la célula, partición/paso del agente al punto (s) objetivo, la concentración de biocidas en el punto (s) objetivo y daño a los puntos. Al iniciar la migración del agente de la fase acuosa a una asociación con la superficie celular este proceso se define como “la captación” (Denyer, 1995). La afinidad de un biocida con una célula puede ser determinada por las isotermas de absorción, que también pueden proporcionar información de la disponibilidad de sitios de destino (Ioannou *et al.*, 2007). Este proceso es regulado por las características fisicoquímicas de la célula y del biocida, y se puede modificar posteriormente por los cambios en características celulares causados por la absorción del biocida.

El daño puede manifestarse de las siguientes maneras: 1) Interrupción de la fuerza motriz de protones transmembranal que conduce a un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa y la inhibición del transporte activo a través de la membrana; 2) Inhibición de la respiración o las reacciones catabólicas/anabólicas; 3) Interrupción de la replicación; 4) Pérdida de integridad de la membrana y la salida de componentes esenciales como el potasio intracelular, fosfato inorgánico, pentosas, nucleótidos y nucleósidos, y las proteínas; 5) Lisis y 6) Coagulación del material intracelular (Denyer y Stewart, 1998).

6.- Factores que condicionan la selección de los desinfectantes

Para la eficacia de un desinfectante se ha de tener en cuenta, la concentración del producto y la dosis recomendada por el fabricante, ya que se puede producir una toxicidad involuntaria al sobrepasar los límites de efectividad (Rueda *et al.*, 2003). Al identificar el agente causante del brote de enfermedad, se debe elegir un desinfectante de comprobada eficacia contra el mismo. La naturaleza de los agentes infecciosos y las condiciones donde se produce la contaminación microbiana son importantes en la selección y uso del producto desinfectante (Markey y Quinn, 2005).

Otros aspectos a tener en cuenta para la selección de un agente biocida es la necesidad de seguir las siguientes sugerencias: baja o nula acción corrosiva, amplio espectro microbiano, soluble, no manchar, no dejar olor, no afectar ropa y materiales, ser eficaz, mostrar acción duradera con poder residual, ser de fácil preparación y manejo, poseer amplio espectro antimicrobiano, ser soluble y estable en agua, y ser de bajo costo (da Costa, 1990).

CONCLUSIONES

- Para tener un control de la metodología es necesario la estandarización del método, donde se tendrán registradas las cantidades de desinfectantes, tiempos de contacto con el microorganismo, distintas concentraciones y resultados de las pruebas.
- Es necesario para realizar el método tener en cuenta el principio activo del desinfectante, la cantidad de sustancias interferentes y la superficie donde va a actuar.
- En la utilización del método, la evaluación de los desinfectantes debe hacerse teniendo en cuenta las distintas

concentraciones, además de los tiempos de contacto recomendados por las normas.

- Teniendo en cuenta el impacto de la *Salmonella* spp. sobre la salud humana se debe priorizar un control sanitario en las plantas de beneficio porcino, buscando el establecimiento de futuros estándares en la metodología de la evaluación de desinfectantes, brindándole a la industria y a los entes gubernamentales y de control, la información para contribuir a garantizar la inocuidad de los alimentos destinados para el consumo humano.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia y la Dirección de Investigación, sede Bogotá (DIB), de la Universidad Nacional de Colombia por el financiamiento del proyecto “Evaluación y caracterización microbiológica de la carne de cerdo y derivados cárnicos como contribución a la garantía de inocuidad en la cadena porcícola”.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AENOR. 2006. Asociación Española de Normalización y Certificación. Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida básica de los antisépticos y desinfectantes químicos. Método de ensayo y requisitos (Fase 1). Norma española UNE-EN 1040:2006.
- AFNOR. 1995. Association Française de Normalisation. Norme Française NF T72-150. In Antiseptiques et désinfectants. Recueil de normes. (3e. éd.). Paris: AFNOR.
- Alban, L. and Stärk, K.D.C. 2005. Where should the effort be put to reduce the *Salmonella* prevalence in the slaughtered swine carcass effectively?. Preventive Veterinary Medicine. 68(1):63-79.
- Álvarez-Alcántara, A.; Espigares-Rodríguez, E. y Gálvez-Vargas, R. 2001. Valoración de desinfectantes. Método de dilución-neutralización. Higiene y Sanidad Ambiental. 1:1-5.
- Barreto-Argilagos, Guillermo; Sedrés-Cabrera, Martha; Rodríguez-Torrens, Herlinda y Guevara-Viera, Guillermo. 2010. Agentes bacterianos asociados a brotes de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) aislados de coprocultivos. REDVET, Revista Electrónica de Veterinaria. 11(3):031016.
- Barrow, P.A. and Freitas-Neto, O.C. 2011. Pullorum disease and fowl typhoid - new thoughts on old diseases: a review. Avian Pathology. 40(1):1-13.
- Berends, B.R.; Van Knapen, F.; Snijders, J.M.A. and Mossel, D.A.A. 1997. Identification and quantification of risk factors regarding *Salmonella* spp. on pork carcasses. International Journal of Food Microbiology. 36(2-3):199-206.
- Bolton, D.J.; Pearce, R.A.; Sheridan, J.J.; Blair, I.S.; McDowell, D.A. and Harrington, D. 2002. Washing and chilling as critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point (HACCP) systems. Journal of Applied Microbiology. 92(5):893-902.
- Bolton, D.J.; Pearce, R.; Sheridan, J.J.; McDowell, D.A. and Blair, I.S. 2003. Decontamination of pork carcasses during scalding and the prevention of *Salmonella* cross-contamination. Journal of Applied Microbiology. 94(6):1036-1042.
- Botteldoorn, N.; Heyndrickx, M; Rijpens, N.; Grijspeerdt, K. and Herman, L. 2003. *Salmonella* on pig carcasses: positive pigs and cross contamination in the slaughterhouse. Journal of Applied Microbiology. 95(5):891-903.

- Boyen, F.; Haesebrouck, F.; Maes, D.; Van Immerseel, F.; Ducatelle, R. and Pasmans, F. 2008. Non-typhoidal *Salmonella* infections in pigs: a closer look at epidemiology, pathogenesis and control. *Veterinary Microbiology*. 130(1-2):1-19.
- Bryhni, E.A.; Byrne, D.V.; Rødbotten, M.; Claudi-Magnussen, C.; Agerhem, H.; Johansson, M.; Lea, P. and Martens, M. 2002. Consumer perceptions of pork in Denmark, Norway and Sweden. *Food Quality and Preference*. 13(5):257-266.
- Caffer, María Inés y Terragno, Raquel. 2001. Manual de procedimientos para la caracterización de *Salmonella*. Servicio Enterobacterias, Departamento Bacteriología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas-Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud "Dr. Carlos G. Malbrán" (INEI-ANLIS). Buenos Aires, Argentina.
- da Costa, Denise Euclides Mariano. 1990. Propiedades y usos de los desinfectantes. En *Desinfectantes en Salud Animal*. San José, Costa Rica: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA).
- De Sadeleer, L.; Dewulf, J.; De Zutter, L.; Van der Stede, Y.; Ribbens, S.; De Busser, E.; Quoilin, S.; Houf, K. *et al.* 2009. A qualitative risk assessment for human salmonellosis due to the consumption of fresh pork in Belgium. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift*. 78(1):34-43.
- Denyer, S.P. 1995. Mechanisms of action of antibacterial biocides. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 36(3-4):227-245.
- Denyer, S.P. and Stewart, G.S.A.B. 1998. Mechanisms of action of disinfectants. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 41(3-4):261-268.
- di Pietro, Silvana; Haritchabalet, Karina; Cantoni, Gustavo; Iglesias, Liliana; Mancini, Sergio; Temperoni, Ana; Labanchi, José L.; Barbarossa, Norma *et al.* 2004. Vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos en la Provincia de Río Negro, Argentina, 1993-2001. *Medicina (Buenos Aires)*. 64(2):120-124.
- Dickson, J.S.; Hurd, H.S. and Rostagno, M.H. 2002. *Salmonella* in the pork production chain. Factsheet. Pork Information Gateway. PIG 13-05-02. 15 p. Pork Checkoff. <http://www.pork.org/filelibrary/Factsheets/PorkSafety/Pork%20Production%20Chain130502.pdf>
- EP and CEU. 1998. The European Parliament and the Council of the European Union. Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council of 16 February 1998 concerning the placing of biocidal products on the market. *Official Journal of the European Communities*. 41(L123):63 p.
- Espigares, E.; Bueno, A.; Fernández-Crehuet, M. and Espigares, M. 2003. Efficacy of some neutralizers in suspension tests determining the activity of disinfectants. *Journal of Hospital Infection*. 55(2):137-140.
- FAO/WHO. 2003. Food and Agriculture Organization of the United Nations-World Health Organization. Recommended international code of practice. General principles of food hygiene. In *Basic texts on food hygiene*. (3rd. ed.). CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003. Rome, Italy: Codex Alimentarius Commission-Joint FAO/WHO Food Standard Programme.
- Fraise, A.P. 1999. Choosing disinfectants. *Journal of Hospital Infection*. 43(4):255-264.
- Funk, Julie and Gebreyes, Wondwossen Abebe. 2004. Risk factors associated with *Salmonella* prevalence on swine farms. *Journal of Swine Health and Production*. 12(5):246-251.
- Gilbert, Peter and McBain, Andrew J. 2003. Potential impact of increased use of

- biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 16(2):189-208.
- Gill, C.O.; Dussault, F.; Holley, R.A.; Houde, A.; Jones, T.; Rheault, N.; Rosales, A. and Quessy, S. 2000. Evaluation of the hygienic performances of the processes for cleaning, dressing and cooling pig carcasses at eight packing plants. *International Journal of Food Microbiology*. 58(1-2):65-72.
- Grimont, Patrick A.D.; Weill, François Xavier. 2007. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. (9th. ed.). WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella* - Institut Pasteur, Paris, France. 166 p.
- Hald, T.; Wingstrand, A.; Swanenburg, M.; von Altrock, A. and Thorberg, B.M. 2003. The occurrence and epidemiology of *Salmonella* in European pig slaughterhouses. *Epidemiology and Infection*. 131(3):1187-1203.
- Henoun-Loukili, N.; Becker, H.; Harno, J.; Bientz, M. and Meunier, O. 2004. Effect of peracetic acid and aldehyde disinfectants on biofilm. *Journal of Hospital Infection*. 58(2):151-154.
- Hernández-San Juan, Sagrario; Zúñiga-Estrada, Armida; Sánchez-Ortega, Iraís; Castro-Rosas, Javier; Román-Gutiérrez, Alma Delia y Santos-Lopez, Eva María. 2007. Condiciones microbiológicas en el proceso de sacrificio en un rastro municipal del estado de Hidalgo, Mexico. *Veterinaria México*. 38(2):187-195.
- ICONTEC. 2007. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. Desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida de los desinfectantes químicos para instrumental utilizado en el sector salud. Método de ensayo y requisitos. (Fase 2, Etapa 1). Norma Técnica Colombiana NTC 5473.
- Ioannou, Christopher J.; Hanlon, Geoff W. and Denyer, Stephen P. 2007. Action of disinfectant quaternary ammonium compounds against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51(1): 296-306.
- ISO. 2002. International Organization for Standardization. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. ISO 6579:2002.
- Kahrs, R.F. 1995. Principios generales de la desinfección. *Revue Scientifique et Technique (Office International des Épizooties)*. 14(1):143-163.
- Kampf, G.; Meyer, B. and Goroncy-Bermes, P. 2003. Comparison of two test methods for the determination of sufficient antimicrobial activity of three commonly used alcohol-based hand rubs for hygienic hand disinfection. *Journal of Hospital Infection*. 55(3):220-225.
- Kitis, Mehmet. 2004. Disinfection of wastewater with peracetic acid: a review. *Environment International*. 30(1):47-55.
- Lawrie, R.A. 1974. *Ciencia de la carne*. Zaragoza, España: Editorial Acribia. pp. 221-226.
- Lenahan, M.; Crowley, H.; O'Brien, S.B.; Byrne, C.; Sweeney, T. and Sheridan, J.J. 2009. The potential use of chilling to control the growth of Enterobacteriaceae on porcine carcasses and the incidence of *E. coli* O157:H7 in pigs. *Journal of Applied Microbiology*. 106(5):1512-1520.
- Little, C.; Richardson, J.; Owen, R.; De Pinna, E. and Threlfall, E. 2008. *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003-2005. *Food microbiology*. 25(3):538-543.
- Lo Fo Wong, D.M.A.; Hald, T.; van der Wolf, P.J. and Swanenburg, M. 2002. Epidemiology and control measures for *Salmonella* in pigs and pork. *Livestock Production Science*. 76(3):215-222.

- Maillard, J.Y. 2002. Bacterial target sites for biocide action. *Journal of Applied Microbiology*. 92:16S-27S.
- Markey, B. y Quinn, P. 2005. Desinfección y otros aspectos del control de la enfermedad. En *Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias*. Zaragoza, España: Editorial Acribia, S. A.
- McDonnell, Gerald and Russell, A. Denver. 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(1):147-179.
- Morais, Leticia G. e Rostagno, Marcos H. 2010. *Salmonella* e resistência a antimicrobianos: desafios contemporâneos na produção de suínos. In *Anais do III Simpósio Brasil Sul de Suinocultura*. 10-12 Agosto. (pp. 75-83). Chapecó, Santa Catarina, Brasil.
- Nielsen, B.; Alban, L.; Stege, H.; Sørensen, L.; Møgelmoose, V.; Bagger, J.; Dahl, J. and Baggesen, D. 2001. A new *Salmonella* surveillance and control programme in Danish pig herds and slaughterhouses. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*. 114(9-10):323.
- Ojha, Shivani and Kostrzynska, Magdalena. 2007. Approaches for reducing *Salmonella* in pork production. *Journal of Food Protection*. 70(11):2676-2694.
- Padungtod, P. and Kaneene, J.B. 2006. *Salmonella* in food animals and humans in northern Thailand. *International Journal of Food Microbiology*. 108(3):346-354.
- Pearce, R.A.; Bolton, D.J.; Sheridan, J.J.; McDowell, D.A.; Blair, I.S. and Harrington, D. 2004. Studies to determine the critical control points in pork slaughter hazard analysis and critical control point systems. *International Journal of Food Microbiology*. 90(3):331-339.
- Pegues, D.A.; Ohl, M.E. and Miller, S.I. 2006. Nontyphoidal salmonellosis. In *Tropical infectious diseases. Principles, pathogens and practice*. (2nd. ed.). (pp. 241-254). Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone.
- Poss, Peter E. 1998. Turkey industry strategies for control of respiratory and enteric diseases. *Poultry Science*. 77(8):1181-1185.
- Rostagno, M.H.; Hurd, H.S.; McKean, J.D.; Ziemer, C.J.; Gailey, J.K. and Leite, R.C. 2003. Preslaughter holding environment in pork plants is highly contaminated with *Salmonella enterica*. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(8):4489-4494.
- Rostagno, Marcos H. 2009. Can stress in farm animals increase food safety risk?. *Foodborne Pathogens and Disease*. 6(7):767-776.
- Rueda, J.; Amigot-Lázaro, J.A. y Ducha, J. 2003. Evaluación de desinfectantes de amonio cuaternario sobre cepas bacterianas de origen animal. *Revue Scientifique et Technique (Office International des Épizooties, Paris, France)*. 22(3):1097-1104.
- Rutala, W.A. and Cole, E.C. 1984. Antiseptics and disinfectants-Safe and effective? *Infection Control*. 5(5):215-218.
- Stringfellow, K.; Anderson, P.; Caldwell, D.; Lee, J.; Byrd, J.; McReynolds, J.; Carey, J.; Nisbet, D. and Farnell, M. 2009. Evaluation of disinfectants commonly used by the commercial poultry industry under simulated field conditions. *Poultry Science*. 88(6):1151-1155.
- Uribe, Catalina y Suárez, Martha Cecilia. 2006. Salmonelosis no tifoidea y su transmisión a través de alimentos de origen aviar. *Colombia Médica*. 37(2):151-158.
- van der Gaag, Monique A. 2004. Epidemiological and economic simulation of *Salmonella* control in the pork supply chain. Doctoral Thesis. Wageningen Universiteit, Wageningen, The Netherlands.
- van der Gaag, Monique A. and Huirne, Ruud B.M. 2002. Elicitation of expert knowledge on controlling *Salmonella* in the pork chain. *Journal on Chain and Network Science*. 2(2):135-146.

Webb, E.C. and O'Neill, H.A. 2008. The animal fat paradox and meat quality. *Meat Science*. 80(1):28-36.

WHO. 2005. World Health Organization. Drug-resistant *Salmonella*. WHO Media centre. Fact sheet N° 139. <http://www.who.int/me>

[diacentre/factsheets/fs139/en/](http://www.who.int/diacentre/factsheets/fs139/en/)

Wong, Teck Lok; MacDiarmid, Stuart and Cook, Roger. 2009. *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7 and *E. coli* biotype 1 in a pilot survey of imported and New Zealand pig meats. *Food microbiology*. 26(2):177-182.