

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



**DETERMINACION DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA DE
SUPERFICIES INTERNAS DE REFRIGERADORES EN HOGARES DEL
AREA METROPOLITANA DE SAN SALVADOR**

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

CLAUDIA LISSETTE ALBERTI ARROYO

MIRSSA NUBIA HERNANDEZ AYALA

**PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA**

JUNIO DE 2011

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTROAMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MSc. RUFINO ANTONIO QUEZADA SÁNCHEZ

SECRETARIO GENERAL

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHÁVEZ

FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA

DECANO

LIC. SALVADOR CASTILLO ARÉVALO

SECRETARIA

MSc. MORENA LIZETTE MARTÍNEZ DE DÍAZ

COMITÉ DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE ÁREA DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS: MICROBIOLÓGICO

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

ASESORA DE ÁREA DE GESTIÓN AMBIENTAL: CALIDAD AMBIENTAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

DOCENTES DIRECTORAS

MSc. Coralia de los Angeles González de Díaz

MSc. María Evelin Sánchez de Ramos

AGRADECIMIENTOS

A nuestro Dios Todopoderoso por acompañarnos y conducirnos a lo largo de todo este camino, también por darnos una maravillosa familia y unos amorosos padres que nos han apoyado hasta el final.

Al comité de Trabajo de Graduación: Coordinadora General, Licda. Odette Rauda, Asesores de área: MSc. Cecilia Gallardo y MSc. Amy Morán por su excelente trabajo.

A CENSALUD, por permitirnos la utilización de sus instalaciones e insumos para la realización de esta investigación; a Juan José y a Amy Morán (nuevamente) porque nunca estuvieron demasiado ocupados para ayudarnos cuando lo necesitamos, muchas gracias, ambos son geniales

A nuestro Técnico estrella Rey por contribuir con nosotras con su tiempo y habilidades y a nuestro amigo Mundo por estar con nosotras en todas las defensas.

Pero más que nada agradecemos a las dos personas sin las que este trabajo no hubiese culminado con éxito, las Docentes: MSc. Coralia de Díaz y MSc. Evelyn de Ramos por su gran paciencia y por dedicar tanto tiempo y energías para que este trabajo saliera lo mejor posible, muchas gracias a ambas.

Claudia y Mirssa

DEDICATORIA

Este logro, que es el mayor obtenido hasta el momento, lo ofrezco a la Divina Providencia; por su caridad infinita, y a nuestra Inmaculada Madre la Virgen María, por conducirme en cada paso de mi vida.

A mis padres José Francisco Alberti y Noemí del Carmen Arroyo de Alberti, por desgastar sus vidas, y sacrificarse por mí, para dejarme la mejor herencia: la formación profesional; además de enseñarme con sus ejemplos, que las cosas que verdaderamente tienen valor en la vida, son aquellas que implican dedicación y esfuerzo, para verlas realizadas. Son una bendición en mi vida.

A mis hermanos y hermanas: Rafael, Roberto, Carlos, Héctor, Brenda, Elsi y Flor, ya que a pesar de ser distintos entre sí, formamos un maravilloso equipo.

A mis sobrinitas: Lupita, Dianita y Naty, porque con sus ocurrencias y travesuras hacen cambiar mi cansancio en alegría.

A J. Rey R. Ponce, por su apoyo incondicional, amistad sincera, y por ser esa sombra que me cobijó cuando más lo necesité, este logro también es tuyo.

A mis compañeros y amigos: Susana, Ingrid, Marcela, Mundo, y especialmente a Mirssa, mi compañera de tesis, por mostrar el rostro tangible de Dios, mediante la amistad sincera que nos unió desde el inicio de nuestra carrera, y que sigue fortaleciéndose, con el pasar de los años.

Claudia

DEDICATORIA

A mi Dios Jehová por darle sentido y propósito a mi vida, has cumplido tu promesa registrada en Isaías 41:13 y me has guiado, ayudado y fortalecido cuando nadie más pudo hacerlo.

A mi padre Salvador el hombre más maravilloso, cariñoso, trabajador y sabio de todos, ningún hombre ha hecho más por su familia que él, gracias papito no hay nadie como tú.

A mi queridísima mamá Antonia por todo su inmenso amor y apoyo incondicional, espero devolverte todo lo que haces por mí, te amo.

A mi “manita querida”, mi alma gemela, por darme su mano fiel y solida para aferrarme firmemente a ella cuando me encuentro abrumada o no encuentro la salida.

A mis mejores amigos, mis hermanitos: Joel, Chambi y Jeysel por apoyarme y ser lo más permanente en mi vida, no saben cuánto los amo.

A mi leal amiga Gisela Zelaya por estar ahí cuando más te he necesitado. A mi querida y dulce Susy y a mi querida y psicópata Inni por su amistad sincera y por recuerdos inolvidables y por supuesto a la persona más dedicada y perseverante de todas Claudia Alberti, sabes que sin ti no lo hubiese logrado gracias.

Mirssa

INDICE

	Nº de página
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xxiv
Capítulo II	
2.0 Objetivos	27
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	30
3.1 Los alimentos como sustratos de los microorganismos.	30
3.2 Enfermedades alimentarias	31
3.2.1 Factores que influyen en la aparición de las toxiinfecciones alimentarias.	32
3.2.2 Características de las principales toxiinfecciones	33
3.3 Grupos microbianos	33
3.3.1 Cuenta aeróbica de placa	34
3.3.2 Mohos y levaduras	35
3.3.2.1 Mohos	36
3.3.2.1.1 Propiedades fisiológicas	36
3.3.2.1.2 Algunos géneros de mohos importantes	37
3.3.2.2 Levaduras y hongos levaduriformes	39

3.3.2.2.1 Algunos géneros de levaduras importantes en alimentos	40
3.3.3 Microorganismos psicrófilos	41
3.4 Microorganismos patógenos	43
3.4.1 <i>Pseudomona aeruginosa</i>	43
3.4.2 <i>Salmonella</i>	44
3.4.3 <i>Listeria monocytogenes</i>	45
3.4.4 <i>Staphylococcus aureus</i>	46
3.4.5 Coliformes	48
3.4.6 <i>Escherichia coli</i>	48
3.5 Superficies de contacto con alimentos	49
3.6 Contaminación cruzada	50
3.6.1 La contaminación cruzada directa	51
3.6.2 La contaminación cruzada indirecta.	52
3.6.3 Contaminación cruzada en la cocina	52
3.7 Formación de Biofilms	53
3.7.1 Importancia de los biofilms	54
3.7.2 Etapas en la formación del biofilm	55
3.8 Conservación de los alimentos mediante el empleo de temperaturas bajas.	56

	Nº de página
3.9 Multiplicación de los microorganismos a temperaturas bajas.	57
3.10 Temperaturas empleadas en el almacenamiento	
a baja temperatura.	59
3.10.1 Refrigeración o “almacenamiento en frío”.	59
3.10.2 La importancia de la refrigeración	62
3.10.3 El refrigerador, los alimentos y sus cuidados.	62
3.11 Etapas de la limpieza y desinfección	64
3.12 Métodos de verificación para el control microbiológico e	
higiénico de superficies	66
3.12.1 Aplicación de los métodos clásicos	67
3.12.2 Método del Hisopo	67
3.12.3 Método de la esponja	68
Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	70
4.1 Tipo de estudio	70
4.2 Investigación bibliográfica	70
4.3 Investigación de campo.	71
4.3.1 Universo	71
4.3.2 Muestras	71
4.3.3 Muestreo	71
4.4 Parte experimental	72

	Nº de página
4.4.1 Procedimiento para el muestreo	72
4.4.2 Análisis de Datos	73
4.4.3 Preparación de la muestra	73
4.4.3.1 Conteo de Bacterias mesófilas aerobias	74
4.4.3.2 Conteo de Mohos y Levaduras	74
4.4.3.3 Conteo de Coliformes Totales	75
4.4.3.4 Conteo de Coliformes fecales	76
4.4.3.5 Determinación de <i>Escherichia coli</i>	77
4.4.3.6 Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	77
4.4.3.7 Determinación de <i>Salmonella spp</i>	78
4.4.3.8 Determinación de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	78
4.4.3.9 Determinación de <i>Listeria monocytogenes</i>	79
4.4.3.9.1 Aislamiento de <i>Listeria spp</i>	79
4.4.3.9.2 Pruebas bioquímicas para <i>L. monocytogenes</i>	80
4.4.3.9.3 Pruebas adicionales para <i>L. monocytogenes</i>	81
 Capítulo V	
5.0 Resultados y Discusión de Resultados	83
5.1 Tabulación de los datos obtenidos en la entrevista realizada	83
5.2 Resultados de la guía de observación de las condiciones higiénicas y de operación de los refrigeradores.	92
5.2.1 Temperatura de operación.	93

	Nº de página
5.2.2 Limpieza	94
5.2.3 Uso de capacidad	95
5.2.3.1 Relación entre uso de capacidad y temperatura de operación	96
5.2.4 Orden	100
5.3 Resultado de la determinación de la calidad microbiológica de las superficies muestreadas.	101
5.3.1 Conteo de bacterias mesófilas aerobias.	101
5.3.2 Conteo de Mohos y levaduras	103
5.3.3 Conteo de Coliformes totales	106
5.3.5 Conteo de Coliformes fecales	108
5.3.6 Presencia de patógenos	110
5.3.7 Consolidado de muestras que cumplen o no con normativa	114
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	120
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	124
Bibliografía	
Glosario	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°

1. Mapa del área metropolitana de San Salvador
2. Hoja de consentimiento
3. Entrevista sobre Buenas Prácticas Higiénicas
4. Hoja de Inspección ocular
5. Codificación de muestras y consolidado de muestras.
6. Normativa para el análisis de superficies
7. Esquemas de trabajo para etapa experimental.
8. Cuadro de resultados de pruebas bioquímicas
9. Hoja de trabajo
10. Cálculo de porcentajes
11. Listado de medios de cultivo, materiales, equipo y reactivos
12. Preparación de reactivos
13. Tríptico sobre saneamiento y limpieza en el manejo y almacenamiento de alimentos en refrigeradores.

INDICE DE FIGURAS

Fig. Nº	Nº de página
1. Desarrollo de la estructura de un Biofilm	55
2. Gráfico de las temperaturas a las cuales operan los refrigeradores, en cada una de las partes estudiadas	93
3. Gráfico de las muestras que se encuentran visualmente limpias ó sucias al momento del muestreo.	94
4. Gráfico de la relación entre la temperatura registrada en las repisas y la capacidad utilizada de las mismas	97
5. Gráfico de la relación entre la temperatura registrada en los cajones y la capacidad utilizada de los mismos	98
6. Grafico que presenta los atributos ordenado y desordenado, según naturaleza de la muestra.	100
7. Gráfico que muestra el conteo de bacterias mesófilas aerobias en cada superficie muestreada.	101
8. Realización de conteo de bacterias mesofilas aerobias	102
9. Gráfico que presenta la cantidad de UFC de mohos presentes en cada superficie del refrigerador	103
10. Gráfico que muestra el porcentaje de levaduras en cada Naturaleza de superficie muestreada.	104
11. Placa de agar papa dextrosa con crecimiento de mohos y levaduras	105

Fig. N°	N° de página
12. Gráfico correspondiente al recuento de coliformes totales en cada superficie muestreada	107
13. Tubos que indican la presencia de coliformes totales en caldo BGLB.	108
14. Gráfico que muestra la distribución en porcentaje de coliformes fecales en cada superficie muestreada	109
15. Placa de agar Chromocult con colonias características de coliformes fecales y prueba confirmativa	110
16. Gráfico de los microorganismos patógenos que fueron encontrados en cada tipo de superficie muestreada.	111
17. Crecimiento de <i>Listeria monocytogenes</i> en agar Oxford	112
18. Pruebas bioquímicas de <i>Listeria monocytogenes</i>	112
19. Placa de agar HE y XLD y placa con agar Bismuto sulfito con colonias características de <i>Salmonella spp.</i>	113
20. Placa con agar Baird Parker con colonias típicas de <i>Staphylococcus aureus</i> y prueba confirmatoria de coagulasa.	113
21. Placas de agar EMB con colonias características de <i>E. coli</i>	114
22. Placas con colonias típicas de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	114
23. Gráfico que muestra los parámetros microbiológicos de las superficies de cajones, según normativa	115

Fig. N°	N° de página
24. Gráfico que muestra los parámetros microbiológicos de las superficies de repisas, según normativa	116
25. Gráfico que muestra los parámetros microbiológicos de las superficies de repisas, según normativa	117
26. Mapa del área metropolitana de San Salvador	
27. Procedimiento para el muestreo	
28. Conteo de Bacterias mesofilas aerobias	
29. Conteo de Mohos y Levaduras	
30. Determinación y conteo de Coliformes totales, fecales y <i>E. coli</i>	
31. Prueba confirmativa de la presencia de Coliformes fecales	
32. Prueba confirmativa de la presencia de <i>E. coli</i>	
33. Determinación de <i>Staphylococcus aureus</i>	
34. Determinación de <i>Salmonella spp.</i>	
35. Determinación de <i>Pseudomona aeruginosa</i>	
36. Aislamiento de <i>Listeria spp.</i>	
37. Pruebas bioquímicas para <i>Listeria monocytogenes</i>	
38. Pruebas complementarias para determinar la presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> (Prueba de catalasa y Motilidad)	
39. Pruebas complementarias para determinar la presencia de <i>Listeria monocytogenes</i> (Prueba de hemólisis)	
40. Ejemplo de cálculo de porcentajes	

INDICE DE TABLAS

Tabla N°	N° de página
1. Géneros representativos de los principales microorganismos psicrotróficos en alimentos refrigerados	42
2. Crecimiento a diferentes temperaturas de algunas bacterias patógenas transmitidas por alimento	59
3. Resultados de Pruebas bioquímicas	
4. Normativa aplicable a análisis de superficies	

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°	N° de página
1. Métodos para descongelar alimentos.	83
2. Procedimiento realizado con alimentos calientes que no se consumen inmediatamente.	84
3. Pautas a seguir, antes de servir sobrantes de alimentos.	85
4. Frecuencia de lavado de manos, antes de preparar alimentos.	86
5. Periodicidad de lavado de manos, después de manipular alimentos.	87
6. Uso para todos los alimentos, de la misma tabla de cortar	88
7. Lavado de tabla de cortar, posterior a su uso.	89
8. Lavado de cuchillo, luego de su uso.	90
9. Frecuencia de limpieza y desinfección del refrigerador.	91
10. Temperaturas de operación de los refrigeradores, según las partes estudiadas.	93
11. Porcentaje de las muestras que visualmente se encontraron limpias o sucias	94
12. Porcentaje de muestras que presentan distintos niveles de capacidad utilizada.	95
13. Porcentaje de muestras de repisas con distintos niveles de capacidad utilizada, y su correspondiente temperatura	96

Cuadro N°	Nº de página
14. Porcentaje de muestras de cajones con distintos niveles de capacidad utilizada, y su correspondiente temperatura.	98
15. Orden en cajones y repisas	100
16. Resultados del conteo de bacterias mesófilas aerobias	101
17. Recuento de mohos	103
18. Recuento de levaduras	104
19. Conteo de coliformes totales	106
20. Conteo de coliformes fecales	108
21. Presencia de patógenos en las muestras	110
22. Parámetros microbiológicos en superficies de cajones	115
23. Parámetros microbiológicos en superficies de cajones	116
24. Parámetros microbiológicos en superficies de cajones	117
25. Consolidado y codificación de muestras	

ABREVIATURAS

AP: Agua peptonada

Aw: Actividad de agua

BGLB: Caldo verde bilis brillante 2%

BHI: Infusión cerebro-corazón

BS: Agar Bismuto sulfito

CASO: Caldo Tripticasa soya

DNPC: Demasiado numeroso para contar.

EC: Caldo EC

EMB: Eosina azul de metileno Lactosa

EPS: Sustancia Polimérica Extracelular.

EY: Extracto de Levadura

HE: Agar Hectoen Enteric

LEB: Caldo de enriquecimiento para *Listeria*

OXA: Base para Agar selectivo Oxford para *Listeria*

TSA: Agar Tripticasa soya

TSA+EY: Tripticasa Soya Agar + Extracto de levadura

XLD: Xilosa lisina desoxicolato

RESUMEN

La vida útil de un alimento depende de su naturaleza, pero también de las condiciones de almacenamiento a las cuales les sometemos. El uso de temperaturas bajas como las de refrigeración (5°C - 10°C), se emplean para retardar las reacciones químicas y la actividad de las enzimas de los alimentos, así como para prorrogar o detener la multiplicación y la actividad de los microorganismos existentes en los mismos; sin embargo, estudios realizados en otros países han revelado que las superficies internas del refrigerador pueden acumular bacterias patógenas.

El objetivo de la investigación fué determinar la calidad microbiológica de las superficies internas de veinte refrigeradores de hogares seleccionados en el área metropolitana de San Salvador en el período de septiembre de 2010 a junio de 2011.

Se evaluaron los conocimientos sobre Buenas Prácticas Higiénicas de los participantes a través de una entrevista, al mismo tiempo que se verificaron las condiciones de limpieza y operación de los refrigeradores por medio de una guía de inspección visual.

La calidad microbiológica de las superficies internas se determinó con la cuantificación de bacterias mesófilas aerobias, mohos y levaduras, coliformes totales y fecales, y la identificación de los patógenos ***Salmonella spp.***,

***Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Listeria monocytogenes*.**

Los resultados de la entrevista revelaron que los participantes conocen sobre las medidas higiénicas que se deben implementar en el manejo y almacenamiento de los alimentos, sin embargo, en la práctica se observó lo contrario, ya que ninguna de las muestras de las superficies internas de los refrigeradores muestreados cumple con las condiciones de limpieza y operación adecuadas.

Los resultados obtenidos en los análisis de las superficies internas de los refrigeradores comprobaron la presencia de ***Salmonella spp*** (41%-47%), ***Pseudomona aeruginosa*** (27%-33%), ***Escherichia coli*** (13%-19%), ***Staphylococcus aureus*** (5%-8%), y ***Listeria monocytogenes*** (2%-5%). Además se registraron conteos altos de bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales y fecales, mohos y levaduras, por lo que ninguna de las muestras analizadas cumplen con lo que establece la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994 para superficies en contacto con alimentos y bebidas.

Al finalizar el estudio se distribuyó a cada uno de los participantes en la investigación, un tríptico informativo conteniendo los procesos de limpieza y sanitización del refrigerador, tomando en cuenta que muchas de las enfermedades generadas por consumo de alimentos se dan a partir de errores que comúnmente se cometen por desconocimiento, por lo que se recomienda

tomar en cuenta dicha información ya que una rutina de limpieza adecuada y un control eficaz de las condiciones de operación del refrigerador, nos garantizan minimizar los riesgos de contaminaciones cruzadas.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

Cada vez es más preocupante para las autoridades de salud, el incremento del índice de ingreso de pacientes con enfermedades causadas por el consumo de alimentos contaminados. Según el informe de labores del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social para el año 2009-2010, las enfermedades diarreicas continúan siendo una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en el país. ⁽³⁶⁾

Frente a esto, es frecuente suponer el riesgo que representa consumir alimentos de la calle, pero aún se ignora el riesgo potencial que también representan los alimentos elaborados en el hogar, debido a la falta de higiene e inadecuada manipulación de los mismos. En América Latina el 40% de los casos de brotes tienen su origen en el hogar. ⁽⁴⁵⁾

Estudios microbiológicos realizados, han demostrado la supervivencia de microorganismos altamente patógenos en superficies internas de refrigeradores pese a las bajas temperaturas que idealmente se mantienen. ⁽²⁶⁾ ⁽³⁴⁾ Lo que transforma a el refrigerador en una amenaza latente para la salud, por el inadecuado mantenimiento del mismo lo que incluye el control de temperaturas, orden, rutina y periodicidad de limpieza.

Es por ello que se determinó la calidad microbiológica de las superficies internas de refrigeradores del área metropolitana de San Salvador en el período de septiembre de 2010 a junio de 2011.

Se realizó un muestreo errático, hasta obtener 20 participantes, correspondientes a igual número de refrigeradores, habiéndose recolectado tres muestras por cada refrigerador: repisas (20), cajones (20), y paredes internas (20); haciendo un total de 60 muestras.

Se realizó una entrevista sobre buenas prácticas higiénicas a los participantes en el estudio y se verificaron las condiciones higiénicas y de operación del refrigerador muestreado.

Se evaluó la calidad microbiológica de las superficies mediante las determinaciones: cuantificación de bacterias mesófilas aerobias, mohos y levaduras, coliformes totales y fecales, y la identificación de los patógenos ***Salmonella spp.***, ***Escherichia coli***, ***Staphylococcus aureus***, ***Pseudomona aeruginosa*** y ***Listeria monocytogenes***. Dichos análisis se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), de la Universidad de El Salvador.

Finalmente, a cada participante en el estudio se le entregó un tríptico informativo de saneamiento y limpieza en el manejo y almacenamiento de alimentos en refrigeradores, que les ayudará a implementar buenas prácticas higiénicas en el hogar y disminuir riesgos de enfermedades

CAPITULO II

OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Determinar la calidad microbiológica de superficies internas de refrigeradores en hogares del área metropolitana de San Salvador.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Evaluar, a través de una entrevista, los conocimientos sobre inocuidad de alimentos a las personas de los hogares seleccionados para el muestreo.

2.2.2 Verificar las condiciones higiénicas de operación en los refrigeradores, considerando los parámetros: temperatura, limpieza, capacidad, orden, y frecuencia de limpieza mediante una guía de observación.

2.2.3 Realizar conteo de: bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, coliformes fecales y mohos y levaduras de las superficies de refrigeradores a muestrear.

2.2.4 Identificar la presencia o ausencia de microorganismos como ***Salmonella spp., Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomona aeruginosa*** y ***Listeria monocytogenes***, del interior de los refrigeradores a analizar.

2.2.5 Elaborar un tríptico de saneamiento y limpieza en el manejo y almacenamiento de alimentos en refrigeradores, para distribuirlo en los hogares donde se realizó el muestreo.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Los alimentos como sustratos de los microorganismos.

Cualquier alimento fresco, tanto si es de origen vegetal como si es de origen animal, contiene varias especies de bacterias, de levaduras y de mohos que lo único que necesitan para ocasionar en el modificaciones indeseables son condiciones favorables para multiplicarse como las siguientes.

- Temperatura
- Luz
- Acido
- Presencia/Ausencia de oxígeno
- Agua
- Crecimiento de agentes inhibidores
- Nutrientes

En la mayoría de los casos los microorganismos utilizan nuestros alimentos como fuente de nutrientes para su propio crecimiento, hecho que naturalmente, puede causar su alteración. ⁽⁴⁾

La alteración de los alimentos es consecuencia de la actividad de los microorganismos, ya que, en la naturaleza, una de sus funciones es la reconversión de las formas reducidas de carbono, nitrógeno y azufre existentes

en las plantas y en los animales muertos, en otras formas oxidadas que necesitan las plantas, las cuales a su vez son consumidas por los animales, por lo tanto en el afán de desempeñar su función, muchas veces pueden convertir en no aptos para el consumo nuestros alimentos. (8)

Con el fin de evitar esto, reducimos al mínimo el contacto entre los microorganismos y nuestros alimentos y también eliminamos los microorganismos que contienen ó al menos adaptamos las condiciones de su almacenamiento para evitar que estos microorganismos se multipliquen y provoquen graves enfermedades. (4) (22)

3.2 Enfermedades alimentarias

Las enfermedades alimentarias transmitidas por patógenos bacterianos son una cuestión importante de seguridad alimentaria a nivel mundial. (40)

Una TIA (Toxiinfección Alimentaria) es una enfermedad causada por microorganismos patógenos que se produce poco después (horas o días) de haber consumido un alimento o una bebida no aptos para el consumo. El origen del cuadro puede estar en la ingestión de un alimento contaminado con microorganismos que se multiplican y dan lugar a la enfermedad (infección), el consumo de un alimento contaminado por toxinas que se han producido por una proliferación de microorganismos en el sustrato (intoxicación), o bien una combinación de ambas cosas (toxiinfección). (28)

Los brotes a causa de enfermedades transmitidas por los alimentos son asociados a un manejo inadecuado, por contaminación cruzada e higiene insuficiente, y a diversos factores ambientales ⁽³¹⁾, originando consecuencias adversas a la salud humana y a la economía. Debido a esto, un control eficaz de la higiene es de vital importancia. En la medida posible, el diseño y la disposición interna de los establecimientos alimentarios deben permitir las buenas prácticas de la higiene alimentaria, incluyendo la protección contra la contaminación cruzada. ⁽³⁴⁾

3.2.1 Factores que influyen en la aparición de las Toxiinfecciones alimentarias(TIA)

El principal factor que interviene en el origen y el desarrollo de la TIA es la falta de higiene.

La higiene alimentaria se ocupa de la manipulación adecuada de los diversos tipos de alimentos y bebidas, de los utensilios y la maquinaria utilizados en su preparación, servicio y consumo, y del cuidado y el tratamiento de los alimentos contaminados por bacterias productoras de intoxicaciones alimentarias que proceden del animal productor del alimento. ⁽³⁵⁾

La prevención es fundamental para evitar la aparición de la contaminación. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), hay un pequeño número de errores que es la causa principal de la aparición de un alto porcentaje de las enfermedades producidas. ⁽³⁸⁾

3.2.2 Características de las principales toxiinfecciones

Las infecciones o intoxicaciones alimentarias de origen microbiano son procesos morbosos de carácter principalmente gastroentérico agudo, con una sintomatología tóxica característica e importante, que aparecen de modo radical después de la ingestión de alimentos contaminados por microorganismos o metabolitos elaborados por ellos, y tienen un período de incubación relativamente corto. Los datos epidemiológicos muestran como ***Clostridium botulinum***, ***Clostridium perfringens***, ***Staphylococcus aureus***, ***Salmonella***, ***Bacillus cereus*** y ***Escherichia coli***, entre otros, se convierten en la causa de una gran mayoría de los cuadros que se producen. ⁽⁴⁰⁾

3.3 Grupos microbianos

Los grupos microbianos pueden incluir varios géneros o especies. Los grupos más importantes de microorganismos indicadores son la cuenta aeróbica en placa (CAP, también conocida como cuenta estándar de placa o cuenta total de placa), hongos y levaduras, bacterias productoras de ácido láctico, coliformes, bacterias psicotróficas, bacterias esporuladas, y microorganismos termodúricos. Otros grupos de microorganismos incluyen microorganismos lipolíticos, proteolíticos, halofílicos, pectinolíticos y productores de ácidos. ⁽⁴¹⁾

Entre las bacterias formadoras de esporas existen varios grupos de interés: mesofílicas aeróbicas, mesofílicas anaeróbicas, acidúricas, termofílicas anaeróbicas y sulfurosas. ⁽⁴⁾

3.3.1 Cuenta aeróbica de placa (CAP)

Se usa como indicador de las poblaciones microbianas aerobias y mesofílicas de un alimento, capaces de crecer en medio sólido complejo. La CAP es posiblemente uno de los grupos indicadores más amplios ya que puede incluir todo tipo de bacterias y levaduras que sean capaces de formar colonias en 24 horas ⁽³⁷⁾ ⁽⁴¹⁾.

Mientras que la CAP incluye a muchos tipos de microorganismos, no se puede considerar la medida de la población completa de una muestra, ya que no incluye organismos anaeróbicos, termofílicos, psicotrofilicos, hongos y bacterias de crecimiento lento. ⁽⁴⁾

La interpretación de los resultados de las pruebas CAP debe hacerse tomando siempre en consideración los siguientes factores: a) CAP solo detecta células vivas, si ya ocurrió crecimiento del microorganismo a niveles excesivos, cabe la posibilidad de que parte de la población haya muerto y se subestime el efecto de la calidad; b) la correlación con CAP normalmente solo se presenta a cuentas bacterianas relativamente altas y bajos niveles no tienen ningún efecto sobre el sabor del producto; y c) el efecto a la calidad va a depender del tipo de microorganismo presente. ⁽¹⁴⁾

3.3.2 Mohos y levaduras

Los hongos y las levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, pueden encontrarse como flora normal de un alimento, o como contaminantes en equipos mal sanitizados. Ciertas especies de hongos y levaduras son útiles en la elaboración de algunos alimentos, sin embargo también pueden ser causantes de la descomposición de otros alimentos. Debido a su crecimiento lento y a su baja competitividad, los hongos y levaduras se manifiestan en los alimentos donde el crecimiento bacteriano es menos favorable. Estas condiciones pueden ser bajos niveles de pH, baja humedad, alto contenido en sales o carbohidratos, baja temperatura de almacenamiento, la presencia de antibióticos, o la exposición del alimento a la irradiación. Por lo tanto pueden ser un problema potencial en alimentos lácteos fermentados, frutas, bebidas de frutas, especias, oleaginosas, granos, cereales y sus derivados y alimentos de humedad intermedia como las mermeladas, dulces, especias, etc.⁽¹⁷⁾

Los hongos y levaduras pueden utilizar ciertos sustratos como pectinas, carbohidratos como polisacáridos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos. También pueden causar problemas a través de: (a) síntesis de metabolitos tóxicos (micotoxinas), (b) resistencia al calor, congelamiento, antibióticos o irradiación y (c) habilidad para alterar sustratos no favorables permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas. Pueden también causar malos olores y sabores y la decoloración de las superficies de alimentos. ⁽²⁹⁾

3.3.2.1 Mohos

El término **moho** se suele aplicar para designar a ciertos hongos filamentosos multicelulares cuyo crecimiento en la superficie de los alimentos se suele reconocer fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso, a veces pigmentado.

Generalmente todo alimento enmohecido se considera no apto para el consumo. La identificación y clasificación de los mohos se basa en observaciones macroscópicas y microscópicas. El grupo de hongos y levaduras es tan extenso que incluye varios miles de diferentes cepas. El uso de hongos y levaduras se basa en el hecho de que estos microorganismos están ampliamente distribuidos en la naturaleza. (22) (29)

Los hongos y las levaduras son contaminantes naturales de la mayoría de los tipos de alimentos y muchos de ellos son capaces de crecimiento rápido lo cual puede causar problemas de deterioración o de producción de toxinas. (29)

3.3.2.1.1 Propiedades fisiológicas.

En comparación con la mayoría de las levaduras y de las bacterias, la mayoría de los mohos necesitan menor cantidad de humedad disponible.

Un porcentaje total de humedad por debajo del 14 al 15 por ciento en la harina o en algunos frutos secos impedirá o retardará mucho el crecimiento de los mohos. Los mohos podrían considerarse mesófilos, es decir, que son capaces de crecer bien a temperaturas normales. La temperatura óptima de la mayoría

se encuentra alrededor de los 25 a 30°C, aunque algunos son psicrótrofos y algunos son termófilos. Son aerobios, esto es cierto por lo menos en los mohos que crecen en la superficie de los alimentos. Casi todos los mohos son capaces de crecer dentro de un amplio intervalo de pH (pH comprendido entre 2 y 8.5), aunque la mayoría crece mejor a pH ácido. Son capaces de utilizar muchos tipos de alimentos, que van desde sencillos a complejos. (29)

3.3.2.1.2 Algunos géneros de mohos importantes en alimentos.

Mucor. Intervienen en la alteración de algunos alimentos y se utilizan en la fabricación de otros.

Rhizopus. La especie **R. stolonifer**, o moho del pan, es muy común e interviene en la alteración de algunos alimentos: bayas, frutas, hortalizas, pan, etc.

Aspergillus. Los aspergilos son mohos muy abundantes. Algunas especies intervienen en las alteraciones que experimentan los alimentos, mientras que otros son de utilidad para preparar determinados alimentos. Se han reportado casi 50 especies de **Aspergillus** como productores de metabolitos tóxicos denominados en general micotoxinas. Las de mayor importancia son: las denominadas aflatoxinas (producidas por **A. flavus**, **A. parasiticus** y **A. nomius**); la ocratoxina A producida por **A. ochraceus**, **A. carbonarius** y **A. niger**; sterigmatocistina producida principalmente por **A. versicolor**; el ácido ciclopiazónico producido por **A. flavus** y **A. tamarii**. La citrinina, patulina y ácido penicílico también son producidas por especies de **Aspergillus**, las tóxicas

tremorgénicas son producidas por **A. terreus** (territremas), **A. fumigatus** (fumitremorgenas) y **A. clavatus** (triptoquivalina). (22) (29)

Las aflatoxinas son derivados de la difurancumarina. Las aflatoxinas B₁, B₂, G₁ y G₂ se producen en la naturaleza por los mohos ya mencionados. Las letras B y G se refieren a los colores de fluorescencia por sus nombres en inglés (azul y verde, respectivamente) observados bajo longitudes de onda en la región UV, y los subíndices 1 y 2 se refieren a sus patrones de separación cromatográficos. Las aflatoxinas M₁ y M₂ se producen por la hidroxilación de las respectivas aflatoxinas B. La aflatoxina B₁ tal vez sea el carcinógeno de hígado más potente para animales incluyendo al humano. La ocratoxina A y la citrinina afectan la función renal. Las toxinas tremorgénicas afectan el sistema nervioso central.

Penicillium. Es otro género de mohos de frecuente incidencia y de importancia en los alimentos, **P. expansum** produce la podredumbre blanda de las frutas; **P. digitatum** y **P italicum** producen la podredumbre de frutas cítricas. Las especies **P. camemberti**, **P. roqueforti** se utilizan en la maduración de quesos. Se han reportado más de 80 especies de **Penicillium** como productores de micotoxinas. (29)

Estas micotoxinas pueden dividirse en dos grupos: las que afectan la función del hepática o renal, y las neurotoxinas. (22)

Las principales micotoxinas producidas por **Penicillium** son, ocratoxina A, citrinina, patulina, ácido ciclopiazónico, citreoviridina, penitremo A, toxina PR y roquefortina y el ácido secalónico. De éstas la ocratoxina A es sin duda la más

importante, es un carcinógeno renal y es producida por *P. citrinum*, *P. viridicatum*, *P. verrucosum*. La principal fuente de esta toxina es el pan de centeno o trigo, o a través de cerdos alimentados con estos cereales cuya carne es posteriormente consumida por humanos. (29)

3.3.2.2 Levaduras y hongos levaduriformes.

El término levadura se refiere a aquellos hongos que generalmente no son filamentosos, sino unicelulares y de forma ovoide o esferoide, y que se reproducen por gemación o por fisión.

Las levaduras que se encuentran en los alimentos pueden ser benéficas o perjudiciales.

Las levaduras se utilizan en la elaboración de alimentos como el pan, la cerveza, vinos, vinagre y quesos, también se utilizan en la obtención de enzimas y alimentos fermentados. Las levaduras son perjudiciales cuando producen la alteración, de los zumos de frutas, de los jarabes, de la melaza, de la miel, de las carnes, del vino, de la cerveza y de otros alimentos.

Los caracteres morfológicos de las levaduras se determinan mediante su observación microscópica. Su forma puede ser desde esférica a ovoide, alimonada, piriforme, cilíndrica, triangular e incluso alargada. La mayoría se reproducen asexualmente por gemación multicelular o por gemación polar.

Unas pocas especies se reproducen por fisión. (5) (29)

En los cultivos en placas de agar es difícil diferenciar las colonias de levaduras de las colonias bacterianas; la observación microscópica de los

microorganismos es la única forma segura de diferenciarlas. La mayoría de las colonias jóvenes de levaduras son húmedas y algo mucosas; la mayoría de las colonias son blancuzcas, aunque algunas tienen un color crema o rosado. Son oxidativas, fermentativas, o bien su actividad metabólica es a la vez de ambos tipos. (29)

La mayoría de las levaduras crecen mejor con un alto contenido de humedad. No obstante, crecen mejor que la mayoría de las bacterias en sustratos que contienen elevadas concentraciones de solutos (por ejemplo carbohidratos o cloruro de sodio), es decir son osmotolerantes. Sin embargo la mayoría de las levaduras necesitan mayor humedad que los mohos. Para la mayoría de las levaduras la A_w mínima de crecimiento oscila entre 0.88 y 0.94. El intervalo de temperaturas de crecimiento es parecido al de los mohos, con una temperatura óptima en torno a los 25 a 30°C y una temperatura máxima en torno a los 35 a 47°C. Crecen mejor en aerobiosis, aunque las especies de tipo fermentativo son capaces de crecer, aunque lentamente, en anaerobiosis. Los azúcares son la fuente energética más apropiada para las levaduras, aunque las oxidativas, pueden oxidar los ácidos orgánicos y el alcohol. (29)

3.3.2.2.1 Algunos géneros de levaduras importantes en alimentos.

Trichosporon. Estas levaduras crecen mejor a temperaturas bajas, encontrándose en las fábricas cerveza y en la superficie de vacuno refrigerada.

Torulopsis. Originan problemas en las fábricas de cervezas. ***T. sphaerica*** fermenta la lactosa, alterando productos lácteos. Otras especies alteran la leche

condensada azucarada, los concentrados de zumos de frutas y los alimentos ácidos.

Rhodotorula. Estas levaduras de color rojo, rosa o amarillo, pueden producir manchas en la superficie de los alimentos como en la superficie de las carnes.

Schizosaccharomyces. Levaduras de este género se han encontrado en frutas tropicales, en la melaza y en la miel.

Zygosaccharomyces. Las levaduras de este género son importantes por su capacidad para crecer en medios con elevadas concentraciones de azúcar (osmófilas), intervienen en la alteración de la miel, jarabes y melazas, y también en la fermentación de la salsa de soya y de algunos vinos. (22) (29)

3.3.3 Microorganismos psicrófilos

Los microorganismos que son capaces de crecer a temperaturas entre 0 y 7°C se dividen en dos tipos: psicrófilos y psicrótrofos, la diferencia entre estos, es que la temperatura óptima de crecimiento es menor a 20°C para los primeros y mayor a 20°C para los segundos. En general los psicrótrofos se definen como los microorganismos que pueden producir crecimiento visible a 7°C dentro de 7 a 10 días. (22)

Por el hecho de que el crecimiento óptimo de los psicrótrofos ocurre a temperaturas mayores de 20°C, se les puede considerar un subgrupo de los microorganismos mesófilos. Los microorganismos psicrótrofos se pueden considerar mas relevantes que los psicrófilos en los alimentos, porque son un

grupo más diverso y porque no son susceptibles a temperaturas mayores de 20°C. (4) (17)

Los microorganismos psicrótrofos están asociados comúnmente con alimentos refrigerados, sirven principalmente para determinar su estado de deterioración y estimar la vida de anaquel. Mientras que los psicrófilos incluyen principalmente bacterias Gram negativas, una gran variedad de bacterias Gram positivas y negativas se consideran psicrótrofas. Las bacterias psicrotrofilas incluyen tanto cocos como bacilos, así como formadoras y no formadoras de esporas con metabolismos aeróbicos y anaeróbicos. Los principales géneros de microorganismos psicrófilos en alimentos refrigerados se muestra en la Tabla N°1. (17)

TABLA N° 1: Géneros representativos de los principales microorganismos psicrotróficos en alimentos refrigerados

Alimento	Microorganismos
Leche pasteurizada	<i>Micrococcus, Enterococcus, Lactobacillus, Streptococcus, Bacillus, Pseudomonas, Alcaligenes, Aeromonas, Flavobacterium</i>
Carne cruda	<i>Pseudomonas, Acinetobacter, Moraxella, Shewanella, Alcaligenes, Aeromonas, Escherichia, Enterobacter, Serratia, Hofnia, Proteus, Bricyhothrix, Micrococcus, Enterococcus, Listeria, Lactobacillus, Carnobacterium, Leuconostoc,</i>
Huevos	<i>Pseudomonas, Proteus, Alcaligenes, Aeromonas, Salmonella.</i>
Pescado	<i>Pseudomonas, Acinetobacter, Moraxella, Shewanella, Alcaligenes, Vibrio, Alteromonas, Photobacterium.</i>

3.4 Microorganismos patógenos

3.4.1 *Pseudomona aeruginosa*

Pertenece a la familia ***Pseudomonadaceae*** y es un bacilo gramnegativo aerobio con un flagelo polar. Cuando se cultiva en medios adecuados produce piocianina, un pigmento azulado no fluorescente. Muchas cepas producen también el pigmento verde fluorescente pioverdina. (19)

Pseudomonas aeruginosa es un microorganismo común en el medio ambiente y puede encontrarse en las heces, el suelo, el agua y las aguas residuales. Puede proliferar en ambientes acuáticos, así como en la superficie de materias orgánicas propicias en contacto con el agua o superficies húmedas. Se han aislado en gran variedad de ambientes húmedos, como fregaderos, baños de agua, sistemas de distribución de agua caliente, duchas y bañeras de hidromasaje y otros ambientes húmedos. (48)

Puede causar diversos tipos de infecciones pero rara vez causa enfermedades graves en personas sanas sin algún factor predisponente. Coloniza predominantemente partes dañadas del organismo, como quemaduras y heridas quirúrgicas, el aparato respiratorio de personas con enfermedades subyacentes o las lesiones físicas en los ojos. Desde estos lugares puede invadir el organismo y causar lesiones destructivas o septicemia y meningitis.

Las personas inmunodeprimidas son propensas a la colonización por ***P. aeruginosa***, que puede conducir a infecciones pulmonares progresivas graves.

Las foliculitis y las otitis relacionadas con el agua se asocian con ambientes

húmedos y cálidos como las piscinas y bañeras de hidromasaje. Muchas cepas son resistentes a diversos antibióticos, lo que puede aumentar su relevancia en el ámbito hospitalario. (48)

3.4.2 *Salmonella*

Es un género de bacterias que pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, formado por bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula (excepto la especie *S. typhi*) ni esporas (22). Son bacterias móviles que producen sulfuro de hidrógeno (H₂S). Fermentan glucosa por poseer una enzima especializada, pero no lactosa, y no producen ureasa. (4)

Es un agente productor de zoonosis de distribución universal. Se transmite por contacto directo o contaminación cruzada durante la manipulación en el procesado de alimentos o en el hogar. (35)

La *Salmonella* habita normalmente en la superficie de los huevos, la piel de tomates y de aquellos frutos y verduras que tienen contacto con la tierra por lo que puede contaminar las superficies donde se almacenen si no se lavan correctamente. (40)

La prevención de *Salmonella* como contaminante de alimentos involucra el higienizar eficazmente las superficies de contacto con los alimentos. (34)

La comida que contenga huevos crudos debe ser cocinada adecuadamente o congelada antes de consumirla. (38)

Cualquier alimento cocinado de manera imperfecta o no cocinado, especialmente en carne, aves, huevos (porque este sale por el mismo conducto de las heces y como la **Salmonella** es una enterobacteria se contamina el huevo, por eso es importante tener practicas de higiene en la manipulación de estos) y la leche, es un buen vehículo de transmisión. (12) (57)

3.4.3 Listeria monocytogenes

Es una bacteria intracelular facultativa causante de la **Listeriosis**. Es uno de los patógenos causante de infecciones alimentarias más virulentos, con una tasa de mortalidad entre un 20 a 30%, más alta que casi todas las restantes toxicoinfecciones alimentarias. **L. monocytogenes** es un bacilo Gram positivo y anaerobio facultativo capaz de proliferar en un amplio rango de temperaturas (1°C a 45°C) y una elevada concentración de sal. (22)

Se ha aislado de peces, aves y mamíferos. En el humano se trata de una enfermedad profesional (personas que trabajan con animales) y también se transmite por alimentos, sobre todo leche, derivados lácteos, carnes mal preparadas (embutidos en especial) y por el consumo de verduras mal lavadas.

(40)

Puede provocar abortos, meningoencefalitis y meningitis especialmente en neonatos, ancianos e inmunodeprimidos, así como bacteriemia en mujeres gestantes, inmunodeprimidos y neonatos. ⁽¹⁶⁾

La prevención es de suma importancia, por eso se recomienda Almacenar la leche a menos de 4 °C, para evitar el desarrollo microbiano. Durante el procesado de los alimentos se debe evitar la contaminación cruzada, evitando que contacten los alimentos ya cocinados con los crudos o el contacto con superficies donde se preparan otros alimentos. ⁽³⁵⁾

Se deben cocinar los alimentos a temperaturas elevadas y durante el tiempo suficiente. Los vegetales se deben lavar y desinfectar si se van a consumir crudos. Es de suma importancia su control en la industria cárnica, evitando contaminaciones cruzadas de los canales con materias fecales durante el sacrificio de los animales. La bacteria crece con relativa facilidad a temperaturas bajas, por ello es importante que los equipos de refrigeración funcionen dentro de unos rangos de temperatura menores de 4 °C. ⁽⁴⁵⁾

3.4.4 *Staphylococcus aureus*

Produce una sustancia tóxica durante su crecimiento que permanece en los alimentos. Se localiza en el ser humano en la piel y conductos nasales pudiendo pasar a los alimentos ya elaborados y que no vayan a sufrir un calentamiento posterior. Debido a que la toxina penetra directamente en el

organismo, no es necesario esperar un tiempo a que se produzcan los síntomas de esta enfermedad como vómitos, diarreas, calambres, y dolor abdominal, se manifiestan rápidamente, en unas horas. (2)

Aunque estas bacterias son fácilmente destruidas por el calor su toxina resiste altas temperaturas. (33)

El ***Staphylococcus aureus*** es una bacteria ampliamente investigada en relación con enfermedades de animales y humanos. Forma parte de la familia ***Micrococcaceae***, género ***Staphylococcus***, el cual contiene más de 30 especies diferentes y muchas de éstas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del hombre. Es un coco gram-positivo, no móvil. No forma esporas, puede encontrarse solo, en pares, en cadenas cortas o en racimos. (33)

Es un anaerobio facultativo, pero crece mejor en condiciones aerobias. El microorganismo produce catalasa, coagulasa y crece rápidamente en Agar sangre. Sus colonias miden de 1 a 3 mm, producen un típico pigmento amarillo debido a la presencia de carotenoides y muchas cepas producen hemólisis a las 24-36 horas. (33)

En estos causa intoxicación alimentaria, choque toxico, y una variedad de infecciones piógenas. ***S. aureus***, posee varios factores de virulencia asociados con la pared celular y extra celulares, los cuales contribuyen a fortalecer la patogenicidad de cada cepa de esta especie. La mayoría de estos factores de virulencia antes mencionados se han caracterizado bioquímicamente. (2)

3.4.5 Coliformes

El grupo coliformes incluye a los microorganismos con las siguientes características: anaeróbicos facultativos, Gram negativos, no forman esporas, y fermentan lactosa produciendo ácido y gas en un periodo de 48 horas de incubación a 35°C-37°C, desprendiendo un olor y sabor desagradables. ⁽⁸⁾ ⁽¹⁷⁾

La composición del grupo coliformes está basado exclusivamente en tales características fenotípicas, por lo que desde el punto de vista genético y taxonómico, no tiene ningún fundamento. ⁽²²⁾

Los cuatro géneros más comunes de coliformes son: ***Escherichia***, ***Klebsiella***, ***Citrobacter*** y ***Enterobacter***. La mayoría de ellos se encuentran en materia en descomposición, estiércol, suelos, aguas fecales, plantas contaminadas, a excepción del género ***Escherichia***, que solo vive en organismos, como el hombre y animales de sangre caliente. ⁽¹⁷⁾

Los coliformes son el grupo indicador asociado a la contaminación fecal en el agua, y en aquellos alimentos y superficies que han recibido un tratamiento y han estado en contacto con materiales sucios. De ser encontrados luego de un tratamiento de desinfección indica que el tratamiento realizado no fue efectivo, ó contaminación posterior al tratamiento. ⁽⁴⁾

3.4.6 *Escherichia coli*

Entre todas las especies de bacterias que pertenecen a la familia ***Enterobacteriaceae***, ***Escherichia coli*** es el único organismo que se puede

encontrar en más del 90% de las heces fecales de seres humanos y animales, además de su gran capacidad de supervivencia en el ambiente. ⁽⁴⁾

La *Escherichia coli* es una bacteria Gram negativa, facultativa anaeróbica, bacilo no esporulado, puede poseer flagelos peritricos o ser inmóvil, posee un metabolismo muy diverso y se distingue de otras bacterias coliformes usando la combinación de ensayos IMViC. ⁽⁴⁾ ⁽⁴⁴⁾

La *Escherichia coli* puede causar infecciones intestinales y extraintestinales generalmente graves, tales como infecciones del aparato excretor, cistitis, meningitis, peritonitis, mastitis, septicemia y neumonía Gram-negativa. ⁽⁴⁴⁾

La *Escherichia coli* está dividida por sus propiedades virulentas, pudiendo causar diarrea en humanos y otros animales. Otras cepas causan diarreas hemorrágicas por virtud de su agresividad, patogenicidad y toxicidad. En muchos países ya hubo casos de muerte con esta bacteria. Causado generalmente por la contaminación de alimentos, y posterior mala cocción de los mismos, es decir, a temperaturas internas y externas menores de 70 °C. ⁽⁴⁴⁾

Se distinguen seis cepas según su poder patógeno, también se les puede llamar *virotipos* o serotipos. ⁽⁴⁾

3.5 Superficies de contacto con alimentos

Las superficies de contacto con alimentos son aquellas que mantienen contacto directo con el alimento desde la compra de este hasta su preparación en el

hogar. Entre estas superficies se incluyen: utensilios, mesas, tablas de cortar y superficies de los equipos que se utilizan para procesar alimentos a nivel industrial ⁽³⁴⁾.

La higiene de estas superficies afecta la calidad y seguridad del producto alimenticio. A través de las superficies se pueden contaminar los alimentos provocando graves y peligrosas enfermedades. ⁽⁴¹⁾.

3.6 Contaminación cruzada

La contaminación cruzada ocurre debido a la introducción de microorganismos o agentes causantes de enfermedad, desde el alimento crudo al alimento listo para el consumo, haciéndolo inseguro para el consumidor ⁽⁴⁰⁾. Los microorganismos patógenos pueden introducirse en el proceso de elaboración, siendo transferidos de un alimento a otro, y llegar a los productos finales a través de diferentes vías. ⁽⁴²⁾

Por contaminación cruzada se entiende la transmisión de microorganismos de un alimento a otro de forma directa o indirecta y adquiere su máximo riesgo cuando se produce a partir de alimentos crudos y como consecuencia de una higiene inadecuada contaminan alimentos elaborados o listos para el consumo. En este caso los posibles microorganismos patógenos se encuentran con muy pocas barreras y pueden multiplicarse hasta niveles de riesgo. ⁽²⁷⁾

Además, contaminación cruzada se refiere a la transferencia de virus, bacterias y otras sustancias dañinas desde los alimentos o las superficies de trabajo a las comidas. La contaminación cruzada puede ocurrir:

- De comida a comida
- De persona a comida
- De equipo o utensilio a comida ⁽³⁸⁾

Las superficies de contacto con el alimento son una de las vías de contaminación más frecuentes, tanto en la industria alimentaria, en la restauración colectiva, así como en el hogar ⁽¹⁰⁾. Por lo tanto, pueden representar un peligro significativo, especialmente si ha habido formación de agregados microbianos adheridos a las superficies e trabajo, conocidos como biofilms. ⁽⁴⁰⁾

3.6.1 La contaminación cruzada directa

Es la más frecuente y difícil de controlar. Se da cuando un alimento limpio entra en contacto con una superficie que anteriormente tocó un alimento contaminado. Por ejemplo, cortar pan con un cuchillo con el que se fileteó carne cruda. ⁽³⁹⁾

- Cuando se mezclan alimentos cocidos con crudos en platos que no requieren posterior cocción como ensaladas, platos fríos, tortas con crema, postres, etc.
- Cuando en el refrigerador los alimentos listos para comer se ubican inadecuadamente, éstos pueden entrar en contacto con alimentos crudos y puede generarse una contaminación. ⁽⁴⁴⁾.

3.6.2 La contaminación cruzada indirecta.

Es la producida por la transferencia de contaminantes de un alimento a otro a través de las manos, utensilios, equipos, mesas, tablas de cortar, etc.

Por ejemplo, si con un cuchillo se corta un pollo crudo y con ese mismo cuchillo mal higienizado, se troza un pollo cocido, los microorganismos que estaban en el pollo crudo, pasarán al pollo cocido y lo contaminarán. (28)

3.6.3 Contaminación cruzada en la cocina

Este tipo de contaminación, una de las causas más frecuentes de toxiinfecciones alimentarias, se puede producir de dos formas distintas, bien por contacto directo entre los dos alimentos o de manera indirecta. (28).

Para prevenirla y, por tanto, evitar situaciones de riesgo, es clave tener en cuenta unas pautas adecuadas de manipulación. (46).

Los microorganismos, incluso ocasionalmente los patógenos productores de enfermedades, pueden encontrarse en alimentos crudos destinados a su consumo como carnes, aves, huevos y verduras. Este hecho no tiene por qué constituir un problema sanitario, ya que un adecuado cocinado posterior de los productos eliminará la posible carga microbiana. (38).

Sin embargo, si el alimento se consume crudo el riesgo aumenta, sobre todo si se conserva previamente a temperaturas templadas de riesgo, lo que puede multiplicar en pocos minutos esa inofensiva (por reducida) carga inicial. A todo ello se le suma otro riesgo más común, el de la contaminación cruzada. (28)

Este tipo de contaminación no solo lo puede producir quien manipula un alimento en condiciones higiénicas inadecuadas sino también, por ejemplo, quien barre el piso cuando se están preparando las comidas. (41)

La cocina ha dejado de ser un lugar en el que sólo cocinamos para convertirse en un punto de encuentro y reunión de los habitantes de la casa. Esta costumbre supone el aumento del número de gérmenes que pueden habitar allí, por lo que se deben extremar las precauciones para evitar que se creen focos de contaminación. (41).

Se estima que más de la mitad de las toxiinfecciones alimentarias domésticas se deben a unos hábitos de higiene incorrectos en la cocina, lo que da como resultado que un lugar que debe estar destinado para cocinar y comer se convierta en el mejor caldo de cultivo para dar vía libre a todo tipo de gérmenes que, a la larga, pueden afectar negativamente a la salud. (35) (38).

3.7 Formación de *Biofilms*

Un biofilm es una población de células creciendo adheridas a una superficie o, entre ellas, en agregados y embebidas en una matriz exopolisacárida (12) (40). El biofilm puede estar constituido de monocultivos, de diversas especies, o de una mezcla de fenotipos de una especie dada (16). Los biofilms se encuentran anclados a una superficie e incrustados en sustancias poliméricas extracelulares (EPS) producidas por ellos mismos (34) (41)..

Las EPS pueden contener polisacáridos, proteínas, fosfolípidos, ácidos teicoicos y nucléicos, y otras sustancias poliméricas hidratadas hasta con un 97% de agua. ⁽³⁴⁾

3.7.1 Importancia de los biofilms

Las comunidades bacterianas desarrollan una función importante en la producción y degradación de materia orgánica, tales como: contaminantes ambientales, en el ciclo del nitrógeno, del azufre y de metales iónicos. La mayoría de estos procesos naturales son complejos y requieren un esfuerzo en conjunto de bacterias con diferentes capacidades metabólicas, como aquellas que residen dentro de un biofilm. ⁽³⁴⁾

Los biofilms son importantes por varias razones, debido a su notable corrosión, porque disminuyen la calidad del agua, y porque actúan como focos de contaminación ⁽¹⁾.

Asimismo, la industria alimentaria y los ambientes domésticos, tampoco están inmunes al fenómeno de adhesión y al subsiguiente desarrollo de biofilms. ⁽⁴⁰⁾

En la práctica, un biofilm sobre superficies inadecuadamente higienizadas es una barrera entre microorganismos y desinfectantes, antibióticos o biocidas y una fuente segura de contaminación cruzada. ^{(3) (42)}

3.7.2 Etapas en la formación del biofilm

Básicamente la formación de un biofilm (Figura 1) consiste en una adhesión inicial de células planctónicas a una superficie, posteriormente a una colonización, es decir al crecimiento de esas células para producir microcolonias y EPS, seguida de una maduración del biofilm por el continuo crecimiento de las microcolonias. (42).

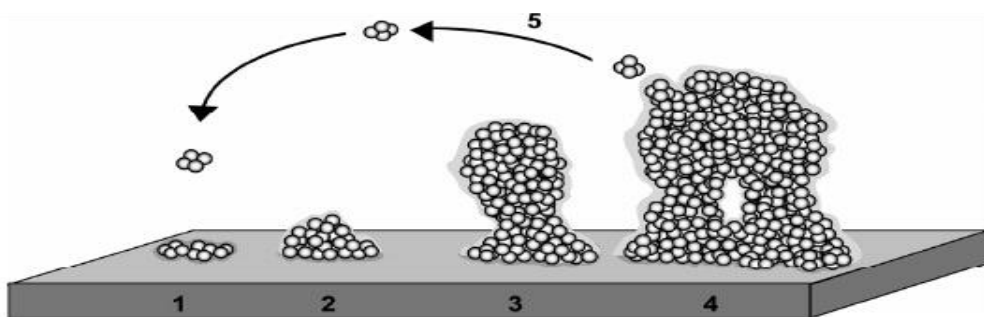


Figura N° 1: Desarrollo de la estructura de un biofilm. 1) Adhesión inicial a la superficie, 2) Colonización y producción de EPS, 3) Estructura temprana del biofilm, 4) Estructura madura del biofilm y 5) Liberación y dispersión de células. (a) Liberación de células planctónicas móviles (b) liberación de un fragmento del biofilm (42).

Finalmente, después de la maduración del biofilm, ocurre un desprendimiento y dispersión de células planctónicas para colonizar nuevas áreas.

Se proponen dos mecanismos de desprendimiento y dispersión que realizan una serie de acontecimientos, como: a) la implicación de la acción de ciertas enzimas que ejecutan una hidrólisis de matriz exopolisacárida y la subsiguiente conversión de una subpoblación de células en células planctónicas móviles que salen del biofilm, y b) la emisión de señales químicas que pueden interrumpir el flujo liberando un fragmento del biofilm (42).

La presencia de altos niveles de nutrientes, depósitos microscópicos y macroscópicos de residuos alimentarios, así como el estrés originado por los limpiadores, desinfectantes o los tratamientos de procesamiento influirán en la estructura del biofilm. Sin embargo, estos factores no son considerados en la teoría actual de formación del biofilm. (34)

3.8 Conservación de los alimentos mediante el empleo de temperaturas bajas.

La temperatura es el único factor más grande que afecta el crecimiento de las bacterias, la reproducción y el deterioro del alimento. Las bacterias pueden desarrollarse solamente dentro de ciertos límites de temperatura, y estos límites varían de una especie a otra. (4).

Ciertas especies crecen en temperaturas cerca del punto de congelación, en casos excepcionales incluso algunos grados centígrados abajo, mientras que otras necesitan temperaturas considerablemente más altas.

Las temperaturas bajas se emplean para retardar las reacciones químicas y la actividad de las enzimas de los alimentos, así como para retardar o detener la multiplicación y la actividad de los microorganismos existentes en los mismos. Cada microorganismo existente en el alimento tiene una temperatura óptima para multiplicarse, y una temperatura mínima, por debajo de la cual es incapaz de multiplicarse. (4) (22)

Conforme desciende la temperatura desde la temperatura optima hacia la mínima, la velocidad de multiplicación de los microorganismos disminuye. Temperaturas más bajas que la mínima, inhibirán el crecimiento, aunque es posible que continúe su actividad metabólica a un ritmo más lento. Por consiguiente, la refrigeración de un alimento a una temperatura inferior a las normales, ejerce una influencia distinta en los diferentes microorganismos existentes en él. (4)

Por consiguiente, el almacenamiento de un determinado alimento a baja temperatura, puede representar un importante factor ambiental que influya en el tipo de flora predominante capaz de alterarlo. (4)

El congelar puede conducir a una destrucción lenta del microorganismo ya que los cristales de hielo rompen las paredes de la célula.

3.9 Multiplicación de los microorganismos a temperaturas bajas.

En general, la congelación impide la multiplicación de la mayoría de los microorganismos transmitidos por los alimentos, mientras que las temperaturas de refrigeración disminuyen su velocidad de multiplicación. Las temperaturas de refrigeración que se emplean en el comercio, es decir, inferiores a los 5 a 7.2°C, retardan realmente la multiplicación de muchos microorganismos patógenos transmitidos por los alimentos, aunque bibliográficamente existen excepciones.

(4) (8)

Clostridium botulinum de tipo E, posee una temperatura mínima de crecimiento de aproximadamente 3.3°C, la ***Yersinia enterocolitica*** es capaz de sobrevivir y de multiplicarse a temperaturas tan bajas como las comprendidas entre 0 y 3°C, entre los mohos, se han encontrado especies de ***Cladosporidium*** y de ***Sporotrichum*** que crecen a una temperatura de -6,7°C y especies de ***Penicillium*** y de ***Monilia*** que crecen a -4°C. Se encuentran documentados casos de bacterias que han crecido a temperaturas tan bajas como las de -5°C en la superficie de carnes, de -10°C en la superficie de carnes curadas, de -11°C en la superficie de pescado, de -12.2°C en la superficie de hortalizas, y de -10°C en el interior de los helados; asimismo, se han señalado casos de levaduras que han crecido a -5°C en la carne y a -17.8°C en ostras.

Por consiguiente, la refrigeración de un alimento a una temperatura inferior a las normales a las normales, ejerce una influencia distinta en los diferentes microorganismos.⁽⁴⁾

TABLA N° 2: Crecimiento a diferentes temperaturas de algunas bacterias patógenas transmitidas por alimentos

MICROORGANISMO	Temperatura mínima de crecimiento. °C
<i>Aeromona hydrophila</i>	1-5
<i>Bacillus cereus</i>	7
<i>Campylobacter jejuni</i>	27
<i>Clostridium botulinum (E)</i>	3.3
<i>Escherichia coli</i>	4
<i>Listeria monocytogenes</i>	3
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	8
<i>Salmonella</i>	5.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	10
<i>Vibrio parahemolyticus</i>	5
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1-7

3.10 Temperaturas empleadas en el almacenamiento a baja temperatura.

3.10.1 Refrigeración o “almacenamiento en frío”.

Este almacenamiento se lleva a cabo a temperaturas no muy superiores a las de congelación y suele suponer el empleo de hielo o de medios mecánicos. Se puede utilizar como principal medio de conservación de alimentos o como procedimiento de conservación temporal. La mayoría de los alimentos más perecederos, entre los que se incluyen los huevos, los productos lácteos, las carnes, los mariscos, las hortalizas y las frutas, se pueden mantener

almacenados bajo refrigeración durante un tiempo limitado, sin que su naturaleza original experimente modificaciones importantes. Con ello, no se evitan las modificaciones por las enzimas y los microorganismos, pero si se retardan considerablemente. (4) (8)

Los parámetros a tener en cuenta en relación con el almacenamiento bajo refrigeración son: la temperatura de refrigeración, la humedad relativa, la velocidad de circulación y la composición del aire de la atmósfera existente en la cámara donde se almacenan y el posible empleo de radiaciones. (4)

- **Temperatura.** La temperatura de refrigeración se selecciona teniendo en cuenta tanto el tipo de alimento como el tiempo que ha de durar su almacenamiento y las circunstancias que concurren en el mismo. La temperatura de los refrigeradores se regula automáticamente, aunque varía en las distintas zonas del mismo, generalmente entre 0 y 10°C. (4) (8)

-**Humedad relativa.** Una humedad relativa excesivamente baja ocasiona una pérdida de agua y por lo tanto de peso, en los alimentos, así como también un marchitamiento y arrugamiento de frutas y hortalizas. Una humedad relativa excesivamente elevada favorece la multiplicación de los microorganismos capaces de producir alteraciones. Los cambios de humedad, así como también los de temperatura, mientras permanecen almacenados los alimentos, pueden ocasionar la exudación o condensación de agua en la superficie del alimento, esta superficie húmeda favorece la presentación de alteraciones debidas a

microorganismos, como por ejemplo la formación de mucílago en la superficie de los embutidos. (4)

- **Ventilación.** La ventilación o regulación de la velocidad de circulación del aire de la cámara de conservación es importante para mantener una humedad relativa constante en todo el recinto de la misma, para eliminar olores, y para evitar la aparición de la rancidez. La velocidad de circulación del aire influye en la velocidad con que se secan los alimentos. Si la ventilación no es apropiada, los alimentos que se encuentran en las zonas en las que existe mayor humedad pueden experimentar alteraciones por los microorganismos. (4)

- **Composición de la atmósfera de almacenamiento.** Tanto la cantidad total como el porcentaje relativo de los distintos gases existentes en la atmósfera del refrigerador donde se almacenan los alimentos, influyen en su conservación por refrigeración. El almacenamiento de gas normalmente se combina con el almacenamiento en refrigeración. En presencia de concentraciones óptimas de dióxido de carbono, o de ozono se ha comprobado: un determinado alimento permanecerá sin alterarse mayor tiempo, que se puede mantener una humedad relativa más elevada sin perjudicar la calidad de conservación de ciertos alimentos, y que se puede emplear una temperatura de almacenamiento mas elevada sin que se acorte el tiempo de conservación del alimento, si se compara este tiempo con el que es posible conservarlo cuando se emplea el almacenamiento normal bajo refrigeración. (4)

- **Irradiación.** La combinación de la radiación ultravioleta con el almacenamiento bajo refrigeración sirve para conservar algunos alimentos y puede permitir el empleo de una humedad o de una temperatura de almacenamiento más elevada que la que es posible emplear solo cuando se almacenan solo en refrigeración . (4) (8)

3.10.2 La importancia de la refrigeración

La refrigeración detiene el crecimiento bacteriano. Las bacterias existen dondequiera en la naturaleza. Éstas están en el suelo, aire, agua y en los alimentos que comemos. Cuando estos tienen nutrientes (los alimentos), humedad y temperaturas favorables, éstas crecen rápidamente, aumentando en número hasta el punto donde otros tipos de bacterias pueden causar enfermedades. Las bacterias crecen rápidamente en un rango de temperatura entre 40 y 140 °F, (4.4 °C y 60 °C) la “Zona de Peligro”, algunas duplicándose en número en tan poco tiempo como en 20 minutos. Un refrigerador puesto a 40 °F (4.4 °C) o menos puede proteger la mayoría de los alimentos. (4) (14)

3.10.3 El refrigerador, los alimentos y sus cuidados.

La refrigeración es uno de los métodos de conservación de alimentos más utilizados en la actualidad.

- Los alimentos deben refrigerarse tan pronto como sea posible, ya que el frío impide que la mayoría de las bacterias desarrollen y multipliquen; como

también retarda las reacciones enzimáticas que ocurren en los alimentos manteniendo sus cualidades por un tiempo más prolongado. (44)

- Es importante mantener los alimentos crudos y sus líquidos lejos de los alimentos de alto riesgo. Para ello es muy importante que sepa como debe ubicar correctamente los alimentos en el refrigerador. (48)
- Controle la temperatura de su refrigerador. Esta debe estar entre 0°C y 5°C. Este rango de temperatura reduce la velocidad de multiplicación de las bacterias. (45).
- Refrigere todos los alimentos que mencionen en la etiqueta "mantener refrigerados" o "una vez abierto el envase refrigerar".(38).
- Cubra correctamente los alimentos con film plásticos, bolsitas plásticas o contenedores de plástico o vidrios. Tenga cuidado con estos últimos, ya que pueden romperse fácilmente. Siempre utilice recipientes cuyas tapas cierren bien. (38) (44)
- Solo abra las puertas del refrigerador o congelador cuando sea necesario para guardar o sacar el alimento ya que esto incrementa la temperatura del aire en la unidad. (44)
- No coloque excesiva cantidad de alimentos en el refrigerador. El aire frío debe circular libremente para mantenerlos en buen estado.
- Congele los alimentos en pequeñas porciones. Esto permite que los alimentos se congelen rápidamente. (44)

- No guarde alimentos calientes directamente en el refrigerador, enfríelos previamente. Para que los alimentos que usted coloca en la heladera o congelador se enfríen rápidamente le recomendamos que los divida en pequeñas porciones y los coloque en recipientes poco profundos. (43) (49)
- Rotule correctamente todos los alimentos que coloca en el refrigerador. El rótulo debe indicar el nombre del alimento, número de raciones, la fecha de envasado y si está crudo, precocido o cocido. (38)

3.11 Etapas de la limpieza y desinfección

Ya que la refrigeración es uno de los métodos de conservación de alimentos mayormente utilizados, se debe tomar en cuenta que su adecuado mantenimiento es importante, las superficies internas del refrigerador tienden también a acumular bacterias (biofilms), debido a derrames de fluidos procedentes de alimentos o al contacto directo de algunos de ellos. De manera que a través del refrigerador puede generarse contaminación cruzada ya sea de manera directa o indirecta al alimento, por esa razón es necesario mantener estas superficies limpias y en buen estado para garantizar así que la seguridad de los alimentos. (34). (41).

De modo que para conservar los alimentos seguros no solo debemos procurar conservarlos sino que también debemos mantener limpio y en buen estado el lugar donde los almacenamos.

La aplicación de las distintas etapas de limpieza dependen de:

- Preenjuague: se trata de realizar una limpieza previa con agua, para eliminar la suciedad más grosera. Se evitará realizar esta operación mediante sistemas de alta presión ya que pueden proyectar partículas de suciedad hacia otras zonas.
- Aplicación del detergente: se realizará mediante el sistema adecuado en cada caso particular. Esta fase es la responsable de disolver y solubilizar la suciedad.
- Enjuague: se realizará mediante agua potable abundante, a media-baja presión para evitar aerosoles
- Aplicación del desinfectante: una vez realizado el proceso de limpieza como tal, se procede a aplicar un desinfectante, para destruir los microorganismos que no se hayan eliminado en el proceso de limpieza, en la fase de aclarado.
- Enjuague: posteriormente se enjuagará, para evitar que los residuos de desinfectante contaminen a los alimentos.
- Secado: en la medida de las posibilidades se realizará una etapa de secado, porque el agua, además de favorecer el crecimiento bacteriano, puede hacer de vehículo diseminador si hubiese quedado algún microorganismo. (34) (41).

Es de esperar que los productos de limpieza y desinfección deban estar libres de microorganismos indeseables y deben ser seguros y apropiados para el alcance de los objetivos deseados (41). Sin embargo, aunque los desinfectantes han sido desarrollados para destruir microorganismos, estos han sido

encontrados en soluciones debido a su habilidad para formar cepas resistentes y al aumento protector de los biofilms ⁽¹⁶⁾.

Algunos estudios han descrito la presencia de *Pseudomonas sp.* en soluciones concentradas de yodo; *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *E. coli*, *Flavobacterium meningosepticum* y *Pantoea agglomerans* en soluciones de amonio cuaternarios y aldehídos ⁽¹⁴⁾ ⁽¹⁸⁾.

Sin embargo, el uso adecuado de productos limpiadores y desinfectantes efectivos sobre los microorganismos adheridos a las superficies minimizan la contaminación del producto, aumentan su vida útil y reducen los riesgos de enfermedades alimentarias. ⁽⁴⁵⁾

3.12 Métodos de verificación para el control microbiológico e higiénico de superficies

La inspección visual tras la limpieza y desinfección nos puede indicar si quedan restos de materia orgánica macroscópicos, pero en la mayoría de las operaciones no es suficiente y por ello se debe recurrir a pruebas más sensibles ⁽²¹⁾.

A pesar de la aplicación de métodos de control microbiológicos, muchos microorganismos permanecerán en las superficies. Sin embargo, las técnicas de muestreo de superficies son imprescindibles, especialmente si se relacionan los resultados obtenidos con parámetros como: la limpieza de la superficie o la calidad del producto alimenticio. ⁽³⁴⁾

3.12.1 Aplicación de los métodos clásicos

Tradicionalmente la valoración de una superficie se realiza mediante métodos microbiológicos como el hisopado (con hisopos o esponjas) seguido de un cultivo microbiano, la aplicación-impronta y aguas de enjuague ⁽⁴⁰⁾. No obstante, los análisis tradicionales y estandarizados para la presencia de microorganismos patógenos confían en el enriquecimiento y el aislamiento de colonias sospechosas sobre un medio sólido usando medios de diagnóstico. Esto usualmente seguido de identificación bioquímica o serológica. ⁽³⁴⁾. ⁽⁴²⁾.

3.12.2 Método del Hisopo

El hisopado consiste en colocar una plantilla (10 cm x 10 cm) sobre la superficie a muestrear, se humedece el hisopo en una solución diluyente y presionando ligeramente en la pared del tubo con un movimiento de rotación para quitar el exceso de diluyente.

Con el hisopo inclinado en un ángulo de 30°, se frota 4 veces la superficie delimitada por la plantilla, cada una en dirección opuesta a la anterior. Se coloca el hisopo en el tubo con la solución diluyente quebrando la parte del hisopo que estuvo en contacto con los dedos del muestreador. ⁽³⁴⁾

De esta manera se asegura que el hisopo arrastre cualquier bacteria que pueda estar en la superficie a muestrear.

Las principales ventajas de este método, por las que se sigue utilizando esta técnica, se relacionan con un bajo coste, amplia disponibilidad y a que permite el muestreo de un área definida. ⁽⁴²⁾

Algunos autores han demostrado que en función del material que constituye el capuchón del hisopo se recuperan más bacterias de las superficies. Concretamente, estos autores concluyeron que los hisopos de algodón recuperaban más bacterias de las superficies húmedas que el resto de hisopos evaluados. (34).

Además estos mismos autores observaron que la composición del diluyente también podía jugar un papel importantísimo en la liberación y disgregación de las bacterias que están retenidas en el hisopo. (42)

3.12.3 Método de la esponja

Este método consiste en frotar vigorosamente con una esponja estéril (de 5cm x 5cm), previamente humedecida en una solución diluyente estéril, el área determinada para el muestreo, en condiciones asépticas. En el caso de superficies regulares frotar el área delimitada por la plantilla y en las superficies irregulares (equipos, utensilios, etc.), frotar abarcando la mayor cantidad de superficie.

Este método se utiliza preferentemente para muestrear superficies de mayor área. (42)

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 Tipo de estudio:

- Estudio Experimental y Prospectivo

- Estudio Experimental

Se realizó un estudio experimental debido a que se evaluó la calidad microbiológica de los refrigeradores sometidos a estudio a través de la realización de las siguientes determinaciones: Conteo de bacterias mesófilas aerobias, conteo de coliformes totales, conteo de coliformes fecales y conteo de mohos y levaduras; presencia de *Salmonella spp.*, *Pseudomona spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* en las superficies internas de los refrigeradores muestreados, lo que se desarrolló en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

- Estudio Prospectivo⁽⁵⁴⁾

Se realizó, además, un estudio prospectivo pues en el país no existen antecedentes de investigaciones previas similares a ésta.

4.2 Investigación bibliográfica:

La investigación se realizó en las bibliotecas:

- Central de la Universidad de El Salvador

- Dr. Benjamín Orozco, Facultad de Química y Farmacia, UES.
- Unidad bibliotecaria de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura, UES
- Universidad Alberto Masferrer (USAM)
- Universidad Dr. José Matías Delgado (UJMD)
- Universidad Centroamericana” José Simeón Cañas” (UCA)
- Internet

4.3 Investigación de campo:

4.3.1 Universo:

Superficies internas de refrigeradores ubicados en el área metropolitana de San Salvador. (Ver Anexo N° 1)

4.3.2 Muestras:

Sesenta muestras de superficies internas de veinte refrigeradores (tres muestras por cada refrigerador: una muestra de repisas, una de cajones y una de paredes internas) de hogares del área metropolitana de San Salvador.

4.3.3 Muestreo:

Para la recolección de muestras se realizó un muestreo errático o sin norma, en donde se seleccionó una parte de la población sin ningún criterio específico, debido a que los parámetros a medir son homogéneos en la población sujeta al estudio. (55)

La toma de muestras se llevó a cabo en hogares de veinte voluntarios de diferentes zonas del área metropolitana de San Salvador. (Ver anexo N° 1)

El proceso de selección de los hogares se hizo basándonos en el siguiente criterio de inclusión: “aceptación para participar en el estudio”.

A partir de esto, se fueron obteniendo uno a uno los voluntarios, hasta contabilizarse 20 participantes, originarios de igual número de hogares. A cada persona se le explicó en qué consistía el análisis utilizando para ello una “Hoja de consentimiento informado”. Si la persona aceptaba colaborar con el estudio agregaba su firma y la fecha al final de la hoja. (Ver Anexo N° 2)

4.4 Parte experimental

4.4.1 Procedimiento para el muestreo:

Se tomaron un total de tres muestras de cada uno de los refrigeradores seleccionados del área metropolitana de San Salvador, tomando una muestra (torunda impregnada con diluyente) de superficies de cajones, una de paredes internas y otra de repisas. Posteriormente se colocó cada muestra (torunda impregnada con diluyente) en un frasco con 100 mL de diluyente agua peptonada (AP) debidamente cerrado y rotulado con el código de la muestra (ver anexo N°5). Dicho código era el mismo asignado a la entrevista y a la hoja de inspección visual.

Las muestras se trasladaron al Laboratorio de Microbiología de Alimentos en el Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador, en una hielera debidamente lavada y sanitizada con alcohol isopropílico al 70%. (ver anexo N°7, figura N°27).

El intervalo de tiempo entre la recolección de muestras, transporte de las mismas al laboratorio y el inicio de las determinaciones microbiológicas, no fué superior a 24 horas.

4.4.2 Análisis de Datos

Se realizó el análisis de los datos obtenidos para obtener porcentajes (Ver anexo N°10), mediante insertar función (relacionando celdas) a manera de crear una regla de tres simple, según el programa Excel 2007. Para elaborar gráficos se utilizó la herramienta de gráficos que este mismo programa posee. Los datos recopilados se reportaron en cuadros.

4.4.3 Preparación de la muestra

- Se prepararon torundas estériles para la toma de cada una de las 60 muestras, las cuales se humedecieron previamente en AP contenida en un frasco de 100 mL de capacidad; se drenó el exceso de líquido y se deslizó la torunda sobre la superficie a muestrear (ya sea de paredes, repisas o cajones) con movimientos firmes.
- Finalizado el muestreo, se colocó la torunda en un frasco que contenía el AP y se rotuló con su respectivo código, el cual estaba constituido por el correlativo de número de muestra; separado por un guión, y precedido por las letras R (repisas), P (paredes) ó C (cajones), con el fin de diferenciar la parte del refrigerador muestreado. Es decir por ejemplo: 06-R, se refería a la muestra 6, correspondiente a repisas. (Ver anexo N° 5)

- Se transportaron las muestras al laboratorio en hielera lavada y sanitizada, conteniendo hielo a una temperatura menor a 5°C para la realización de sus respectivos análisis.

4.4.3.1 Conteo de Bacterias mesófilas aerobias ⁽³²⁾

- Se agitó fuertemente el frasco que contenía la muestra (torunda), se pipeteó 1 mL de la muestra y se colocó en una placa estéril. (Se hizo por duplicado).
- Se adicionó de 15 a 20 mL de Agar Recuento en Placa a una temperatura aproximada de 45°C, se homogenizó utilizando la técnica por rotación en forma de ocho.
- Se incubó a 35-37°C por 24 horas y se efectuó el conteo de Bacterias mesófilas aerobias. (Ver anexo N° 7, figura N° 28)

4.4.3.2 Conteo de Mohos y Levaduras ⁽²⁹⁾ ⁽³²⁾

- Se agitó fuertemente el frasco con la torunda y se pipeteó 1 mL, el cual se colocó en una placa estéril. (Se inoculó por duplicado).
- Se le adicionó de 15 a 20 mL de agar papa dextrosa acidificado con ácido tartárico al 10% esterilizado (1.4 mL de ácido tartárico por cada 100mL de medio), a una temperatura aproximada de 45°C, homogenizando mediante la técnica por rotación en forma de ocho.
- Se incubó a temperatura ambiente durante cinco días y se efectuó el conteo de mohos y levaduras por separado (Ver anexo N° 7, figura N° 29)

4.4.3.3 **Conteo de Coliformes Totales** ⁽³²⁾

- Se agitó fuertemente el frasco con la torunda (muestra), se pipeteó 1 mL de la muestra y se colocó en una placa estéril, se le adicionaron 15 mL de agar Chromocult coliformes a una temperatura de aproximadamente 45°C y se homogenizó utilizando la técnica de rotación en ocho, por último se dejó solidificar. (Por duplicado)
- Una vez el medio se solidificó, se le agregaron otros 3-4 mL del mismo agar y se dejó gelificar para inhibir el crecimiento de las colonias en la superficie.
- Se incubaron las placas a una temperatura de 35-37°C colocándolas de manera invertida.
- Se realizó el conteo de colonias características de color rosado. (Ver anexo N° 7, Figura N°30)
- A partir de las colonias obtenidas en el medio Chromocult coliformes, luego de su correspondiente conteo, se inoculó mediante asa bacteriológica cada colonia rosada ó rojiza, en tubos (con campanas de Durham) conteniendo caldo verde brillante (BGLB 2%), considerando tomar una porción representativa de ellas cuando estas fueron muy numerosas.
- Se incubó 24-48 horas a 35-37°C.
- Se observó turbidez en el medio y gas en las campanas, y de allí se confirmó dicho conteo como coliformes totales, y se descartaron aquellos tubos cuyo crecimiento fue negativo.

4.4.3.4 **Conteo de coliformes fecales** ⁽³²⁾

De las placas de agar Chromocult coliformes, inoculadas en el proceso descrito anteriormente, se realizó el conteo de colonias color morado, características para Coliformes fecales y en consecuencia probablemente *E.coli*.

- Se inoculó en caldo EC (con campanas de Durham), cada una de las colonias de color morado obtenida a partir del medio Chromocult, dando énfasis en aquellas que promovieron la formación de gas en la interfase del agar. Considerando además el mismo criterio de tomar una porción representativa de ellas (máximo 15 colonias) cuando éstas sean muy numerosas.
- Además, a partir de los tubos positivos de caldo BGLB, que identificaron coliformes totales, se tomaron tres porciones de cada tubo, mediante asa bacteriológica, y se inocularon en igual número de tubos conteniendo caldo EC (con campanas de Durham), tomando nota de su conteo.
- Se incubó en baño María, durante 24-48 horas a 44.5°C.
- Se consideró la presencia de coliformes fecales, al obtener turbidez en el medio y formación de gas dentro de la campana, El conteo reportado es la suma de los tubos positivos a partir de caldo BGLB mas los tubos positivos a partir de las colonias color morado en medio Chromocult. , (Ver anexo N° 7, figura N°

4.4.3.5 Determinación de *Escherichia coli* ⁽³²⁾

- De los tubos positivos de caldo EC, se inoculó por el método de estrías sobre placas con medio EMB.
- Se incubó 24 horas a 35-37°C.
- Se observó la morfología de las colonias resultantes, donde las colonias purpura-verdosas, planas, con o sin brillo verde metálico, se consideraron como ***E. coli***. (Ver anexo N° 7, figura N° 32)

4.4.3.6 Determinación de *Staphylococcus aureus* ⁽³²⁾

- Se agitó fuertemente el frasco con la torunda (muestra) y se pipeteó 0.3 mL, 0.3 mL y 0.4 mL que se colocaron en 3 placas, respectivamente, con Agar Baird Parker, esparciendo la muestra homogéneamente con ayuda de un rastrillo estéril.
- Se incubaron las placas a 35-37°C por 24 horas, y se observó el desarrollo de colonias sospechosas de ***Staphylococcus aureus***, de aspecto negro brillante o gris oscuro, con formación de halo alrededor de la colonia.
- Las colonias sospechosas se transfirieron a tubos con caldo BHI y se incubaron por 24 horas a una temperatura de 35-37°C.
- De los tubos con caldo BHI positivos (turbios) se inoculó en tubos con plasma humano, los cuales se incubaron a una temperatura de 35-37°C por 24 horas, la formación de un coágulo que no se deshace al invertir el tubo indicó presencia positiva de ***Staphylococcus aureus***. (Ver anexo N° 7, figura N°33)

4.4.3.7 Determinación de *Salmonella spp.* ⁽³²⁾

- Se agitó fuertemente el frasco con la torunda (muestra) y se tomaron 10 mL que se colocaron en 90 mL de caldo Lactosado, se incubaron por 24 horas a 35-37 °C.
- De los frascos con crecimiento (turbidez), se tomaron 0.1 mL y 1 mL y se adicionaron a 10 mL de caldo Rappaport-Vasiliadis (RVS) y a 10 mL de Caldo Tetrionato (TT) respectivamente.
- Se incubaron el Caldo Rappaport-Vasiliadis (RVS) por 24 ± 2 horas a 42 ± 0.2 °C, y el Caldo Tetrionato (TT) por 24 ± 2 horas a 35 ± 2 °C.
- De los tubos con crecimiento se sembraron sobre la superficie de agar XLD, BS, HE por la técnica de estrías.
- Se incubaron las placas por 24 horas a 35-37°C y se examinaron buscando colonias sospechosas de *Salmonella spp.* Que en el medio XLD, se mostraron como colonias rosadas con o sin centro negro, en el medio HE, como colonias azul-verdosas con centro negro, y en BS, como colonias grises oscuras con una especie de espejo de plata. (Ver anexo N°7, figura N° 34)

4.4.3.8 Determinación de *Pseudomonas aeruginosa* ⁽³²⁾

- Se agitó fuertemente el frasco con la torunda (muestra) y se tomaron 10 mL y se adicionaron en 90 ml de caldo CASO.
- Se incubaron por 24 horas a 35-37°C.

- De los frascos con crecimiento, se inoculó por la técnica de estrías con ayuda del asa bacteriológica, sobre una placa con agar Cetrimide.
- Se incubaron a las placas a 35-37°C por 24 horas y se examinaron las placas en busca de colonias de color verde, fluorescente a la luz UV lo que indicó una prueba positiva de la presencia de ***Pseudomona aeruginosa***. (Ver anexo N°7, figura N° 35)

4.4.3.9. Determinación de *Listeria monocytogenes* (32) (Ver anexo N°7, figuras 36 y 37)

4.4.3.9.1 Aislamiento de *Listeria spp.*

- Se tomaron 10 mL del frasco con la torunda (muestra), se colocaron en 90 mL de caldo de enriquecimiento de ***Listeria*** (LEB) y se incubaron por 24 horas a 35-37 °C.
- De los frascos con crecimiento, se inoculó (por duplicado) en placas de Agar Oxford y se incubaron a 35-37°C por 24 horas.
- Posterior a las veinticuatro horas, se refrigeraron (a 4°C) las placas de agar Oxford por 24 horas para un óptimo crecimiento.
- La formación de colonias negras grisáceas umblicadas constituyó presencia positiva para ***Listeria spp.***
- Se transfirieron 5 o más colonias típicas del agar Oxford, en forma duplicada en placas de TSA + EY, se incubaron a 35-37°C por 24 horas y se procedió a la realización de pruebas bioquímicas y pruebas adicionales necesarias para la identificación de ***Listeria monocytogenes***.

4.4.3.9.2 Pruebas bioquímicas para *Listeria monocytogenes* (32) (Ver anexo N°

7, figuras 37, 38 y 39)

- **TSI:** se inoculó utilizando un asa en punta por picadura en el fondo y estriando el bisel, se incubaron los tubos inoculados durante 24-48 horas a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$, y se interpretaron los cambios en el cuadro de resultados.
- **Voges Proskauer:** se inoculó una colonia en un tubo que contenía 3 mL de medio MRVP, y se incubó 48 horas a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Posteriormente se le agregó al tubo 3 gotas de solución alcohólica de alfa naftol + 2 gotas de la solución de hidróxido de potasio; se agitó después de cada adición de reactivo.
- La aparición de un color rosado o rojo brillante que se desarrolló dentro de los 15 min. siguientes indicó reacción positiva.
- **Reacción de urea:** se inoculó un tubo que contenía 3mL de caldo urea con la colonia en examen y se incubó durante 24 horas a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$. Luego de la incubación. El cambio de color en el caldo que da un viraje a rosado, es prueba , implica prueba positiva, lo cual descarta la presencia de *Listeria*.
- **Rojo de Metilo:** se inoculó un tubo que contenía 3 mL de caldo MRVP, con la colonia en evaluación y se incubó por 96 horas a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Después de incubar, se le agregaron de 1-2 gotas de reactivo rojo de metilo. La aparición de un color rojo indicó una prueba positiva. (Ver anexo N° 17)
- Se realizaron, también, pruebas adicionales como la catalasa y motilidad.

4.4.3.9.3 Pruebas adicionales para *Listeria monocytogenes*⁽²⁹⁾ (Ver anexo N° 7,

figuras 38 y 39)

- **Prueba de la Catalasa:** se colocó sobre un portaobjeto previamente esterilizado una gota de Peróxido de hidrógeno al 3% (H₂O₂). Posteriormente se tomó una colonia típica de la placa de TSA + EY con un palillo estéril y se colocó en el H₂O₂. Un burbujeo en los primeros segundos indica reacción positiva.
- **Prueba de Motilidad:** con la ayuda de un asa en punta se tomó una colonia típica y se inoculó en un tubo con medio motilidad, pinchando sin llegar a tocar el fondo. Se incubaron por 7 días a temperatura ambiente y se confirmaba por un crecimiento en forma de sombrilla en el medio.
- **Prueba de hemólisis:** se tomó mediante asa bacteriológica, una colonia aislada del cultivo de TSA+EY, con colonias presuntivas de listeria, y se estrió sobre placa de agar sangre enriquecida con sangre desfibrinada de cordero al 5%. Se incubó durante 24-48 horas, a 35-37°C, y se observó la presencia de β hemólisis, por la formación de halos claros alrededor de las colonias cultivadas sobre el medio.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

4.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.1 Tabulación de los datos obtenidos en la entrevista realizada. (Ver anexo N°

3).

Para evaluar los conocimientos sobre Buenas Prácticas Higiénicas en los propietarios de los refrigeradores analizados, se utilizó un instrumento exploratorio, basado en una entrevista (ver anexo N° 3), cuyos ítems y correspondientes respuestas se presentan a continuación.

Pregunta 1. ¿Qué método utiliza para descongelar alimentos?

Cuadro N° 1: Métodos para descongelar alimentos.

LITERAL		PORCENTAJE
a	Deja enfriar en la mesa	57%
b	Sumergido en agua	29%
c	En el microondas	0%
d	Debajo del chorro de agua	9%
e	En refrigeración	5%
f	Cocina los alimentos congelados	0%
	Numero de entrevistados (n)	20

Un 57% de los participantes aplica el método de descongelar los alimentos sobre la mesa, lo que supone un riesgo si se dejan destapados ó en contacto con otros alimentos o superficies, lo que puede generar una contaminación

cruzada por derrames y contacto; seguido por el descongelamiento sumergido en agua con un 29%, una práctica que también constituye un riesgo, por la calidad del agua a utilizar, y el destino de ésta luego del proceso de descongelamiento. Los métodos considerados como más aceptables son el descongelar en refrigeración, y bajo un constante chorro de agua, los cuales solo constituyen un 5 y 9%, de las respuestas dadas por los participantes.

Pregunta 2. ¿Qué hace con los alimentos calientes que no se sirven inmediatamente después de cocinados?

Cuadro N° 2: Procedimiento realizado con alimentos calientes que no se consumen inmediatamente.

LITERAL		PORCENTAJE
a	Enfría, tapa y refrigera inmediatamente.	30%
b	Deja en la mesa hasta enfriar y luego refrigera.	60%
c	Tapa y refrigera inmediatamente sin enfriar.	0%
d	Deja en la mesa para servir posteriormente.	10%
e	Cambia de envase sin tapar hasta que enfríe y refrigera.	0%
f	Mantiene caliente hasta su consumo.	0%
	Numero de entrevistados (n)	20

El 30% de los entrevistados realiza correctamente los pasos para el almacenamiento de los alimentos, 60%, es decir, la mayoría de los participantes dice no tapar los alimentos para enfriarlos, sino sólo dejarlos sobre la mesa y

luego refrigerar lo cual es desfavorable, ya que el contacto de vectores como moscas, cucarachas, mosquitos, entre otros; con alimentos expuestos sin protección alguna, generan un alto grado de contaminación y por tanto elevan el riesgo de padecer una enfermedad de origen alimentario. Igual riesgo supone la respuesta del 10% de los entrevistados, quienes aseguran dejar los alimentos en la mesa para servir posteriormente, sin considerar el hecho de protegerlos con una cubierta ó tapadera.

Pregunta 3. ¿Qué hace antes de servir sobrantes de alimentos?

Cuadro N° 3: Pautas a seguir, antes de servir sobrantes de alimentos.

LITERAL		PORCENTAJE
a	Calienta hasta que salga vapor.	60%
b	Calienta hasta que esté suficientemente caliente para comer.	30%
c	No calienta los sobrantes de alimentos.	0%
d	No guarda sobrantes de alimentos.	10%
e	Coloca en la mesa por un tiempo y luego calienta hasta que salga vapor.	0%
f	Coloca en la mesa por un tiempo y luego calienta hasta que esté suficientemente caliente para comer.	0%
	Numero de entrevistados (n)	20

Un 60% realiza un calentamiento apropiado de los alimentos, un 30% no lo hace, exponiéndose a los riesgos de consumir alimentos con una alta carga microbiana.

Considerando que un calentamiento apropiado de los alimentos garantiza minimizar los riesgos de contraer enfermedades de origen alimentario, debido a que las altas temperaturas poseen la capacidad de destruir una gran gama de microorganismos, es necesario llevar a ebullición los mismos, cuya evidencia visible, es la salida de vapor, situación que se restringe al calentar en un nivel subjetivo que constituye, el suponer el término: suficientemente caliente para comer, lo cual de persona a persona variará, siendo entonces, un riesgo tangible, al consumir alimentos cuyo calentamiento es incompleto, y por tanto su carga microbiana alta. Un 10% de los participantes dicen no complicarse y por ello no guardan sobrantes de alimentos.

Pregunta 4. ¿Se lava las manos antes de preparar alimentos?

Cuadro N° 4: Frecuencia de lavado de manos antes de preparar alimentos.

LITERAL		PORCENTAJE
a	Siempre.	90%
b	Generalmente.	0%
c	Casi siempre.	0%
d	Algunas veces.	10%
e	Rara vez.	0%
f	Nunca.	0%
Numero de entrevistados (n)		20

El 90% de los participantes asegura realizar el proceso de lavado de manos siempre que se dispone a la preparación de alimentos, mientras un 10% lo hace algunas veces.

El lavado de manos es una parte fundamental dentro de la cadena de buenas prácticas en la manipulación de alimentos, normalmente transportamos millones de bacterias en las manos aunque la mayoría son inofensivos otras, sin embargo, pueden causar graves enfermedades, de ahí la importancia de realizar el correcto lavado de manos antes de preparar los alimentos, se percibe el conocimiento de parte de los entrevistados al respecto de dicha importancia pues casi la totalidad de ellos realizan dicha medida higiénica.

Pregunta 5. ¿Se lava las manos después de manipular alimentos?

Cuadro N° 5: Periodicidad de lavado de manos, después de manipular alimentos.

LITERAL		PORCENTAJE
a	Siempre.	60%
b	Generalmente.	10%
c	Casi siempre.	5%
d	Algunas veces.	15%
e	Rara vez.	0%
f	Nunca.	10%
Numero de entrevistados (n)		20

El 60% de encuestados asegura lavarse las manos después de manipular alimentos, el otro 40% dice hacerlo generalmente, algunas veces e incluso que nunca lo hace, lo que indica que casi la mitad de la población entrevistada no

ha desarrollado conciencia de la importancia de la higiene después de la preparación de los alimentos.

Es importante lavarse las manos después de manipular todo tipo de alimentos, en especial cuando se entra en contacto con alimentos crudos, principalmente carnes y que posteriormente se manipularán alimentos listos para su consumo, ya que podemos generar contaminación cruzada de un alimento a otro.

Pregunta 6. ¿Utiliza la misma tabla de cortar para todos los alimentos?

Cuadro N° 6: Uso para todos los alimentos, de la misma tabla de cortar.

LITERAL		PORCENTAJE
a	Siempre.	90%
b	Generalmente.	5%
c	Casi siempre.	5%
d	Algunas veces.	0%
e	Rara vez.	0%
f	Nunca.	0%
	Numero de entrevistados (n)	20

El 90% de los participantes afirmó usar siempre la misma tabla de cortar para todos los alimentos, el restante 10% utilizan la misma tabla, generalmente y casi siempre, pudiéndose entonces generar el fenómeno de contaminación cruzada indirecta muy común en el hogar; la cual se origina principalmente a través del contacto de un alimento con superficies inertes contaminadas o mal higienizadas.

Esto es lo que sucede con las tablas de cortar, los expertos insisten en la importancia de utilizar una tabla de cortar para alimentos crudos o carnes y otra para frutas y hortalizas para evitar la transferencia de microorganismos de un alimento a otro, sin embargo los resultados de la entrevista revela un desconocimiento del riesgo.

Pregunta 7. ¿Lava la tabla de cortar después de usarla?

Cuadro N° 7: Lavado de tabla de cortar, posterior a su uso.

LITERAL		PORCENTAJE
a	Siempre.	75%
b	Generalmente.	20%
c	Casi siempre.	5%
d	Algunas veces.	0%
e	Rara vez.	0%
f	Nunca.	0%
	Numero de entrevistados (n)	20

Es de interés señalar que el 75% de los entrevistados lava la tabla inmediatamente después de usarla lo que indica que en este aspecto se están cumpliendo con las buenas prácticas higiénicas. Un 20% generalmente realiza el lavado luego del uso, y el restante 5% lo hace casi siempre.

La tabla de cortar es uno de los utensilios más importantes a la hora de cocinar, los hay de muchos materiales principalmente plásticos y de madera, sin embargo en ambos casos tras el uso se forman grietas en la superficie de la

tabla y aunque no lo podamos ver a simple vista esas grietas originan la formación de nichos o biofilms de bacterias que no se eliminan fácilmente sino se hace un adecuado lavado de la misma.

Pregunta 8. ¿Lava el cuchillo después de usarlo?

Cuadro N° 8: Lavado de cuchillo, luego de su uso.

LITERAL		PORCENTAJE
a	Siempre.	0%
b	Generalmente.	5%
c	Casi siempre.	40%
d	Algunas veces.	25%
e	Rara vez.	15%
f	Nunca.	15%
	Numero de entrevistados (n)	20

Solo el 40% de los encuestados dice lavar el cuchillo “casi siempre”, el otro 60% dice hacerlo algunas veces, rara vez o nunca.

Al igual que la tabla de cortar, el cuchillo puede generar contaminación cruzada de manera indirecta, debido a que entra en contacto con la flora microbiana de los productos crudos, y dicha flora puede transferirse a los alimentos listos para su consumo, es por esa razón que durante la preparación de los alimentos no se debe usar el mismo cuchillo para partir todos los alimentos sin haberlo lavado adecuadamente antes.

Pregunta 9. ¿Cuál es la frecuencia con la cual realiza la limpieza y desinfección de su refrigerador?

Cuadro N° 9: Frecuencia de limpieza y desinfección del refrigerador.

LITERAL		PORCENTAJE
a	Diariamente	0%
b	2 veces por semana	5%
c	Semanalmente	40%
d	Quincenalmente	25%
e	Mensualmente	15%
f	Mayor a un mes	15%
	Numero de entrevistados (n)	20

El 5% de los entrevistados realiza la limpieza de su refrigerador 2 veces por semana, 40% semanalmente, un 25% lo hace cada 15 días, en otras palabras el 70% de los participantes está realizando la limpieza de su refrigerador en un intervalo apropiado, solo un 30% lo hace al mes o con un intervalo de tiempo mayor.

La frecuencia de limpieza y desinfección del refrigerador influye considerablemente en el mantenimiento adecuado de los alimentos, al igual que en otras superficies, las superficies de los refrigeradores se exponen a los derrames, partículas y residuos de los alimentos que se convierten en nichos bacterianos muy resistentes a la desinfección. Los malos hábitos higiénicos y la falta de conocimiento del peligro exponen nuestros alimentos a contaminarse

con estas superficies, más aun cuando no se vigilan las condiciones de operación del mismo como la temperatura, orden y capacidad.

Pregunta 10. ¿Qué método utiliza para realizar la limpieza y desinfección de su refrigerador?

En general los participantes manifiestan realizar un proceso en el que inicialmente desconectan el aparato para eliminar la escarcha, proceden a retirar el contenido, enjuagan y aplican un detergente común, enjuagan nuevamente, y finalizan secando con un paño, sólo un 40%, manifiesta la aplicación de un agente bactericida y desinfectante como la lejía, es decir, pocos conocen y practican la rutina correcta de limpieza y desinfección, la cual incluye la aplicación de un agente de este tipo, pues muchas bacterias están muy fuertemente afianzadas a las superficies, y ni el detergente y sus correspondientes enjuagues logran desprenderlas, he ahí la importancia del conocimiento de una correcta rutina, para lograr el objetivo de tener un refrigerador que asegure la inocuidad de lo que allí se almacena.

5.2 Resultados de la guía de observación de las condiciones higiénicas y de operación de los refrigeradores.

Con el fin de corroborar la probable relación entre las condiciones de operación del refrigerador y la presencia de microorganismos, se realizó una inspección

visual de parámetros tales como: temperatura, limpieza, capacidad, orden, y frecuencia de limpieza. (Ver anexo N° 4)

5.2.1 Temperatura de operación.

Cuadro N°. 10: Temperaturas de operación de los refrigeradores, según las partes estudiadas

	< 4 °C TEMPERATURA IDEAL	5 - 10 °C	10 - 15 °C	> 16 °C	Total
Repisa Superior	0%	21%	63%	16%	100%
Repisa Media	0%	18%	73%	16%	100%
Repisa Inferior	0%	14%	57%	29%	100%
Cajones y/o verdulera	0%	12%	47%	41%	100%

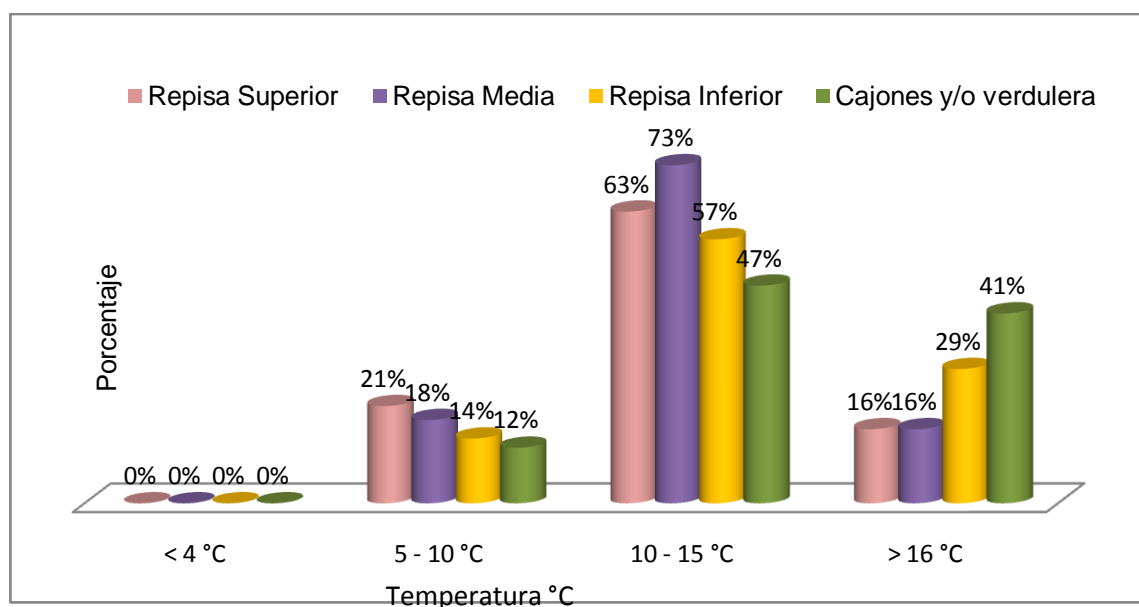


Figura N° 2: Gráfico de las temperaturas a las cuales operan los refrigeradores, en cada una de las partes estudiadas.

En la figura N° 2, se muestra que las temperaturas registradas son extremadamente altas en comparación con lo que teóricamente es adecuado para mantener los alimentos en su óptimo estado; es decir $< 4\text{ }^{\circ}\text{C}$, siendo la repisa superior la que se mantiene a una temperatura más baja, y los cajones y/o verdulera la que registra la temperatura más alta, que alcanza niveles de temperatura ambiente.

5.2.2 Limpieza

Cuadro N° 11: Porcentaje de las muestras que visualmente se encontraron limpias o sucias

ATRIBUTO	Cajones	Repisas	Paredes internas
Sucio	45%	45%	50%
Limpio	55%	55%	50%
TOTAL	100%	100%	100%

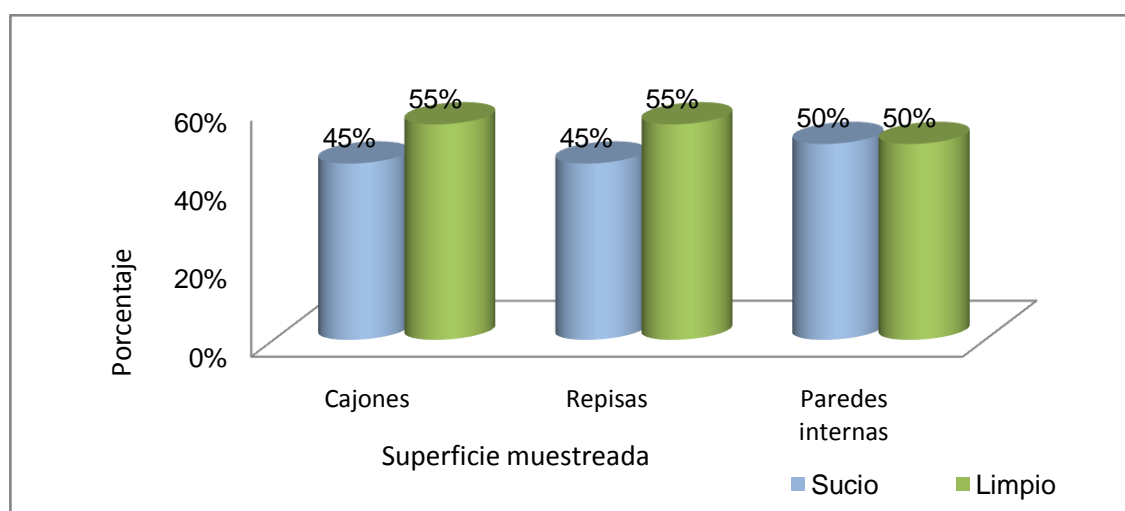


Figura N° 3: Gráfico de las muestras que se encuentran visualmente limpias ó sucias al momento del muestreo.

En la figura N° 3, se reflejan los resultados de la inspección visual, donde se estableció como: "sucio" las zonas en donde se pudieran apreciar derrames, suciedad acumulada en los cajones, repisas, y paredes internas, malos olores, e inclusive insectos atrapados, y "limpio", cuando estaba libre de lo anteriormente mencionado.

Según los resultados obtenidos de las superficies internas del total de refrigeradoras inspeccionadas, el 50% se reportaron como sucias y el otro 50% como limpias. En el caso de las repisas y cajones en ambos casos un 55 % se evaluaron como limpias a simple vista.

5.2.3 Uso de capacidad

Cuadro N° 12: Porcentaje de muestras que presentan distintos niveles de capacidad utilizada

Superficie muestreada	4 / 4 d	3 / 4 g	1 / 2	1 / 4 f	TOTAL
Repisas	25%	45%	10%	20%	100%
Cajones	22%	50%	11%	17%	100%

Para este parámetro se asignó el criterio 4/4, para referirse a un llenado total de la capacidad del refrigerador; 3/4 se utilizó para asignar un llenado parcial de la capacidad (a más de la mitad), 1/2 para representar a la mitad de la capacidad disponible del refrigerador, y 1/4 para referirse al llenado de una cuarta parte de la capacidad de la que dispone el refrigerador.

Tanto un 45% de las repisas, como un 50% de los cajones se reportaron con $\frac{3}{4}$ de la capacidad del refrigerador, es decir, más de la mitad del espacio se encontraba ocupado, mientras que un 25% y 22% para repisas y cajones respectivamente, reportan un llenado total, tomando en cuenta que un 20% de las repisas y 17% de los cajones, solo mantenían utilizada una cuarta parte del espacio disponible.

5.2.3.1 Relación entre uso de capacidad y temperatura de operación.

Para visualizar el efecto de la cantidad de productos ó carga que posee el refrigerador en cada parte estudiada, al momento del muestreo, conforme la temperatura que se registró en ella, se presentan los resultados en el cuadro siguiente:

Cuadro N° 13: Porcentaje de muestras de repisas con distintos niveles de capacidad utilizada, y su correspondiente temperatura.

SUPERFICIES INTERNAS DE REPISAS				
Capacidad	Temperatura			
	< 4°C	5°C - 10°C	11°C - 15°C	>16°C
4 / 4	0%	5%	15%	5%
3 / 4	0%	5%	25%	10%
1/2	0%	0%	5%	0%
1 / 4	0%	0%	25%	5%

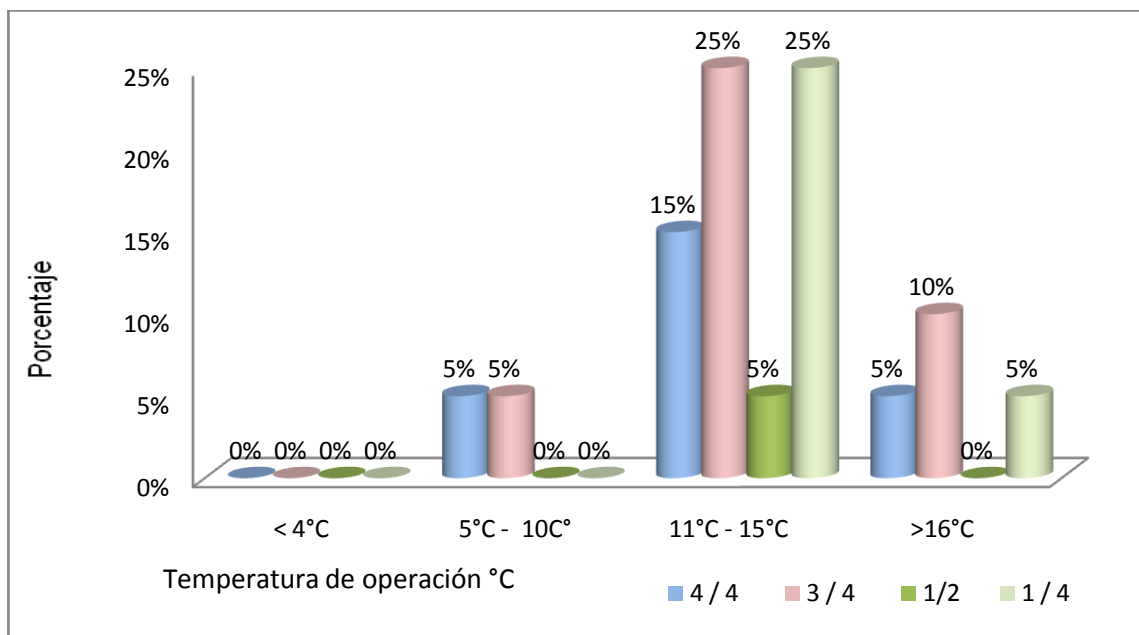


Figura N° 4: Gráfico de la relación entre la temperatura registrada en las repisas y la capacidad utilizada de las mismas.

La figura N°4, muestra un 25% de las repisas, tanto con tres cuartos, como con un cuarto de la capacidad del refrigerador utilizada refleja temperaturas entre 11°C y 15°C, lo cual constituye en sí temperaturas en el nivel de riesgo. En este mismo nivel de temperaturas se encuentra un 15% de los refrigeradores considerados llenos y un 5% de los que se mantienen a un cuarto de su capacidad. Como pudimos observar en el cuadro N° 10 y correspondiente figura N° 2, este es el intervalo de temperaturas que agrupó a la mayor cantidad de muestras y la capacidad mayormente presente también fue la de tres cuartos de lleno, como se puede constatar en el cuadro N° 12.

Es interesante observar como 10% de los refrigeradores a tres cuartos de capacidad, y 5% tanto llenos, como casi vacíos, es decir a un cuarto de

capacidad, registran temperaturas mayores a 16°C, lo cual apunta a una mala utilización del termostato interno del refrigerador en estudio.

Cuadro N° 14: Porcentaje de muestras de superficies de cajones con distintos niveles de capacidad utilizada, y su correspondiente temperatura.

SUPERFICIES INTERNAS DE CAJONES				
Capacidad	Temperatura			
	< 4°C	5°C - 10°C	11°C - 15°C	>16°C
4 / 4	0%	0%	15%	5%
3 / 4	0%	15%	20%	15%
1/2	0%	0%	15%	0%
1 / 4	0%	0%	5%	10%

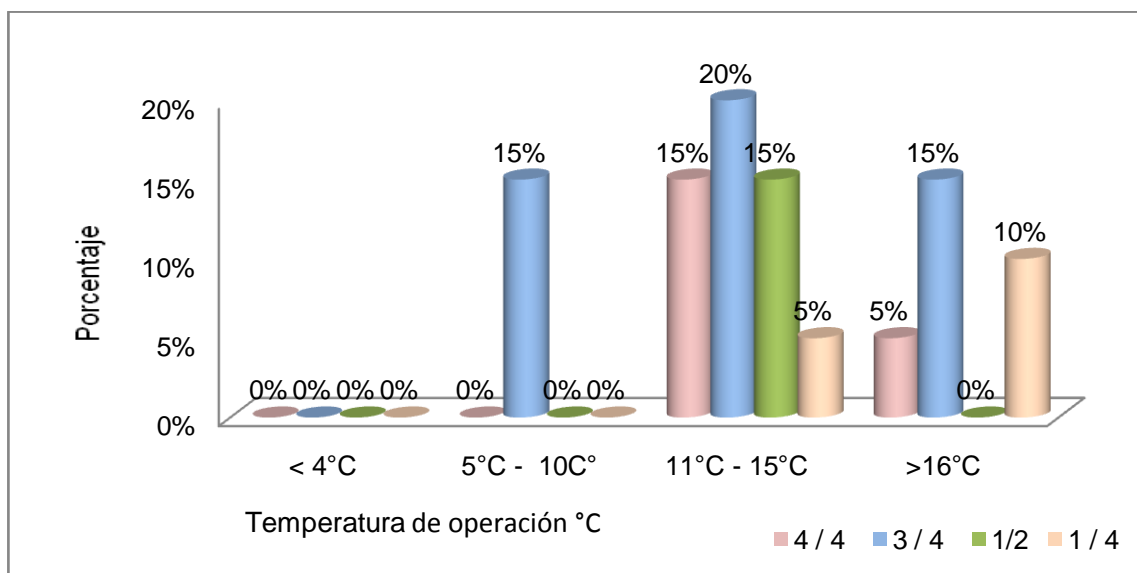


Figura N° 5: Gráfico de la relación entre la temperatura registrada en los cajones y la capacidad utilizada de los mismos.

La figura N° 5, destaca que un 15% de los cajones a tres cuartos de su capacidad se encontraron a temperaturas de 5°C-10°C, y 20% de estos a igual capacidad se ubicaron en el intervalo de 11-15°C, acompañados a esta misma

temperatura por 15% tanto de cajones llenos como a la mitad de la capacidad, y un 5% a un cuarto de la misma.

Teóricamente se hubiese creído que a mayor carga ó cantidad de alimentos almacenados dentro del refrigerador, mayor sería la temperatura que se registrara debido a la dificultad de la circulación del flujo de aire en el interior del mismo, pero para enfatizar la importancia de la inspección del control de temperaturas, es visible que refrigeradores llenos, ó casi llenos tanto en repisas como cajones, registran temperaturas, que si bien es cierto no son las correctas, pero sí más bajas que las registradas en refrigeradores a la mitad ó cuarta parte de su capacidad. Por lo que puede considerarse que la temperatura de operación, si depende de la cantidad de alimentos almacenados, pero también del nivel de control del termostato, ya que muchas veces por descuido ó por el ahorro de energía, no se toma en cuenta este importante elemento para lograr una completa y correcta funcionalidad del refrigerador.

Para obtener la temperatura que se asignó a repisas, se sacó el promedio entre repisa superior, media e inferior, para poder realizar la relación.

5.2.4 Orden

Cuadro N° 15: Grado de orden presente en cajones y repisas del refrigerador.

PARÁMETRO	CAJONES	REPISAS
Ordenado	47%	40%
Desordenado	53%	60%
TOTAL	100%	100%

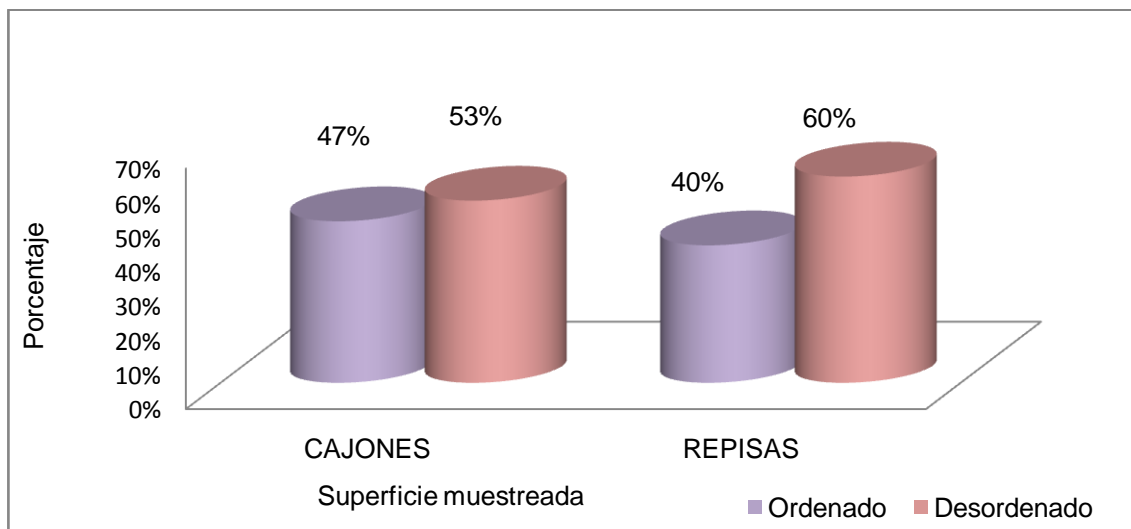


Figura N° 6 Gráfico que presenta los atributos ordenado y desordenado, según naturaleza de la muestra.

Para medir esta característica se tomó el término “Ordenado” para referirse a donde debe ir cada alimento según su naturaleza. Por ejemplo las frutas y verduras deben ir en los cajones, en las repisas en la parte superior debe encontrarse aquellos alimentos que no generen derrames o goteos y en la repisas intermedias deberán almacenarse alimentos que estén en recipientes herméticos y sellados.

Y se etiquetó como “desordenado” a aquellos que no cumplían con todo lo anterior.

Según los resultados tanto repisas con un 60%, como cajones con 53%, se mantienen desordenados, ya que los alimentos en su mayoría se almacenan de manera incorrecta.

5.3 Resultado de la determinación de la calidad microbiológica de las superficies muestreadas.

5.3.1 Conteo de bacterias mesófilas aerobias.

Cuadro N° 16: Resultados del conteo de bacterias mesófilas aerobias

Recuento de mesófilos aerobios	Repisas	Paredes	Cajones	Según Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994
	Porcentaje (%)	Porcentaje (%)	Porcentaje (%)	
DNPC	85	65	80	NO CUMPLEN
<400 UFC/cm ² *	15	35	20	CUMPLEN
Total	100%	100%	100%	

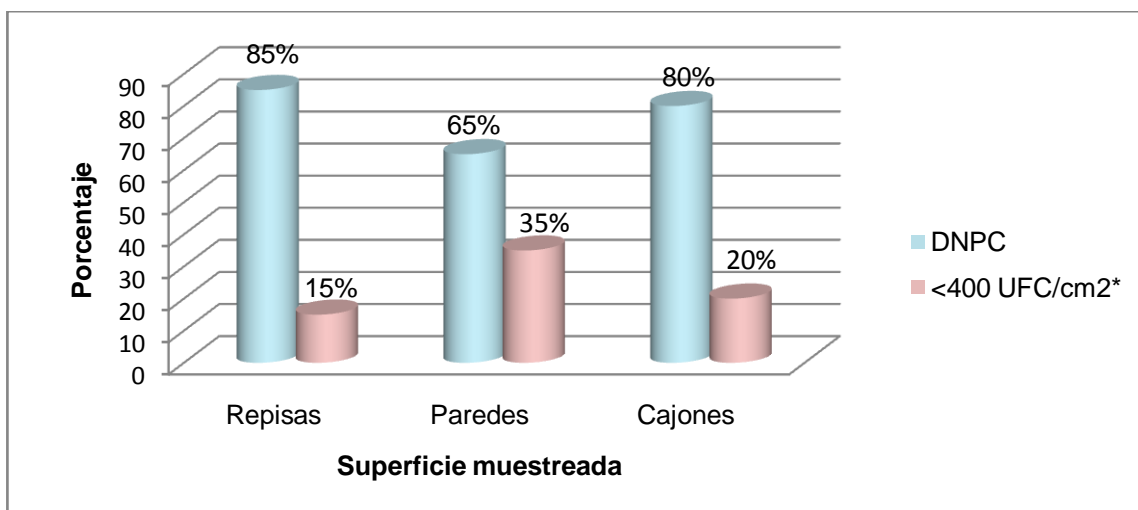


Figura N° 7 Gráfico que presenta el conteo de bacterias mesófilas aerobias en cada superficie del refrigerador muestreada.

La figura N° 7, ilustra que sólo un 15% de las repisas, 35% de las paredes y 20% de cajones cumplen lo que establece la Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, debido a que el 85% de repisas, 65% de paredes y 80% de cajones presentan valores con el atributo DNPC (Demasiado Numeroso Para Contar), es decir con multiplicidad de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) presentes en placa.

En general 78% de las muestras analizadas tanto de cajones, repisas y paredes no cumplen con el requerimiento de la Norma Oficial Mexicana. NOM-093-SSA1-1994, lo que demuestra la poca e inadecuada limpieza y sanitización de los refrigeradores analizados.

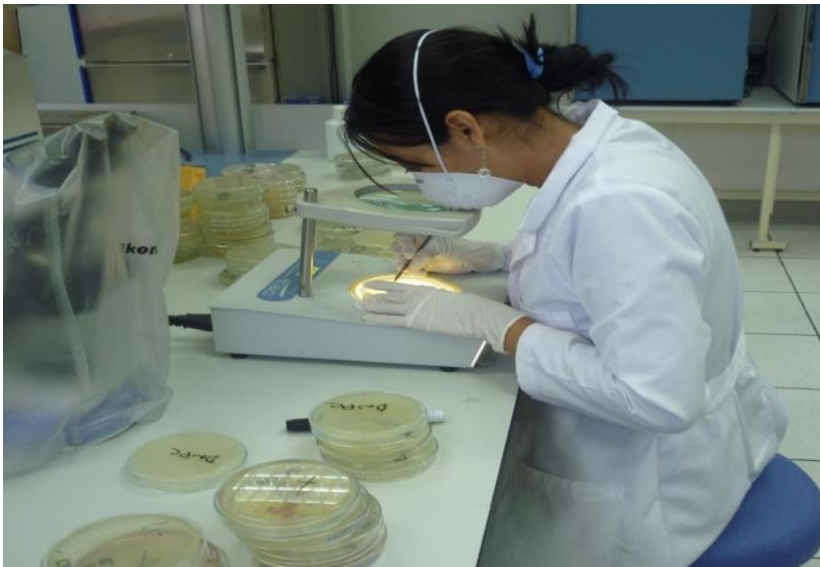


Figura N° 8: Realización de conteo de bacterias mesófilas aerobias

5.3.2 Conteo de Mohos y levaduras.

Cuadro N° 17: Recuento de mohos en cada superficie del refrigerador analizado.

RECuento DE MOHOS	Superficie de Repisas	Superficie de Paredes	Superficie de Cajones	Porcentaje
	Porcentaje	Porcentaje	Porcentaje	
0	50	50	40	47%
1-10 UFC	20	30	30	27%
10-30 UFC	5	5	0	3%
DNPC	25	15	30	23%
TOTAL	100	100	100	100%

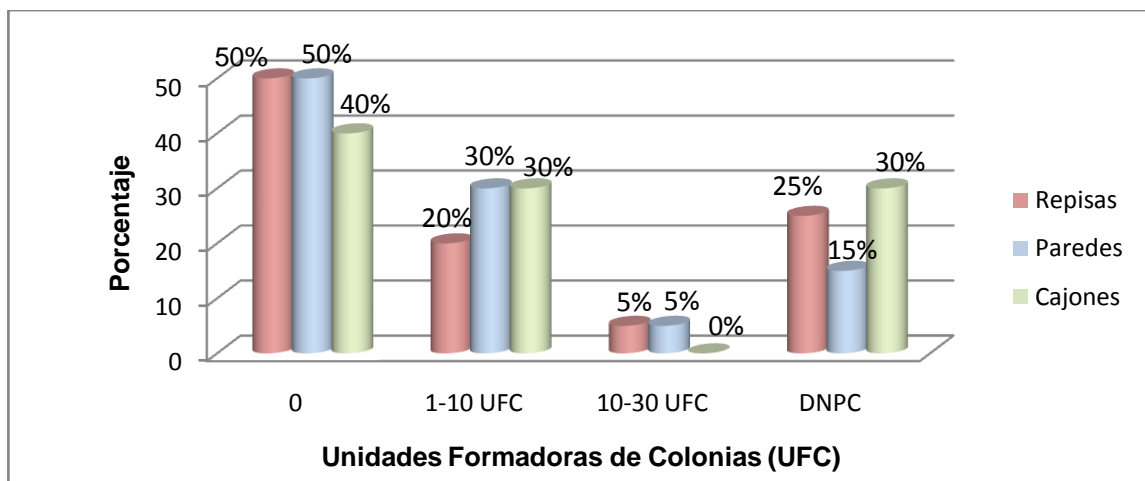
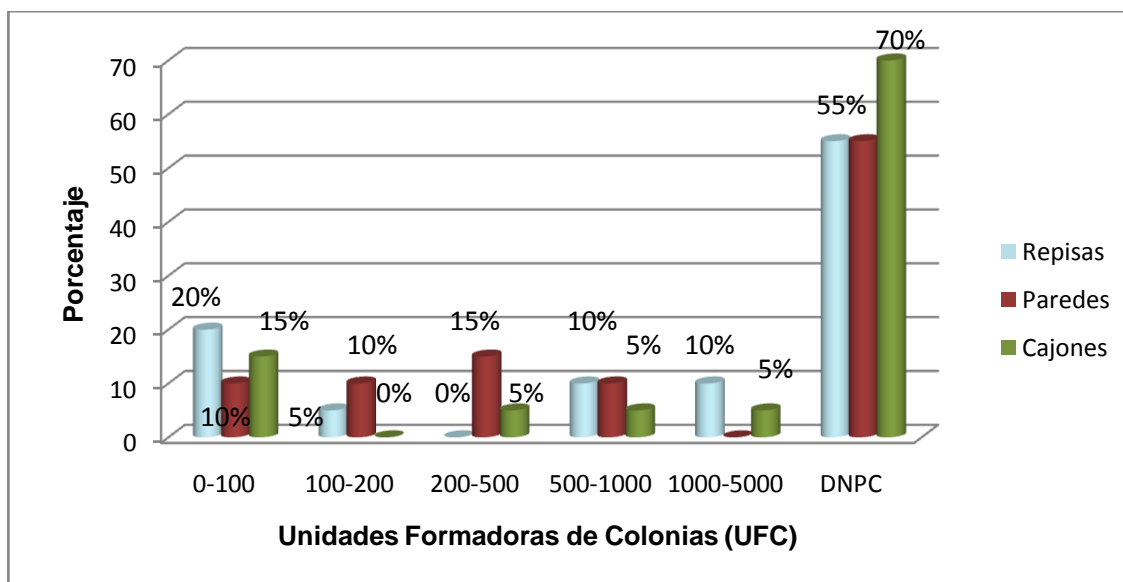


Figura N° 9: Gráfico que presenta la cantidad de UFC de mohos presentes en cada cada superficie muestreada.

La figura N° 9, destaca que el 47% de la totalidad de muestras que se componen del 50% de cajones, 50% de repisas y 40% de paredes del refrigerador no presentan crecimiento de mohos, mientras que el 23% de las muestras, constituidas por el 25% de cajones, 15% de repisas y 30% de paredes internas muestran crecimientos elevados de diversidad de mohos de morfología diversa.

Cuadro N° 18: Recuento de levaduras de cada superficie muestreada

RECUEENTO DE LEVADURAS	Superficie de Repisas	Superficie de Paredes	Superficie de Cajones	N° de muestras que registran el dato	Porcentaje consolidado en muestras
	Porcentaje (%)	Porcentaje (%)	Porcentaje (%)		
0-100	20	10	15	9	15%
100-200	5	10	0	3	5%
200-500	0	15	5	4	7%
500-1000	10	10	5	5	8%
1000-5000	10	0	5	3	5%
DNPC	55	55	70	36	60%
TOTAL	100%	100%	100%	60	100%

**Figura N° 10** Gráfico que muestra el porcentaje de levaduras encontrados en cada superficie del refrigerador.

La figura N° 10, muestra que el 55% de las muestras, constituidas por el 55% de repisas, 55% de paredes y 60% de cajones presentaron crecimientos elevados de levaduras diversas, llegando a ser demasiado numerosos para

poder contarse (DNPC), y esto es razonable, si se toma a consideración las condiciones en las que las levaduras proliferan, y son justamente muy cercanas a las que se mantienen en los refrigeradores muestreados.



Figura N° 11: Placas de agar papa dextrosa con crecimiento de mohos con aspecto aterciopelado o algodónoso y centro negro-grisáceo de gran tamaño y levaduras de color blanquesino y rosado, de apariencia lisa y opaca.

Mohos y levaduras fueron analizados por separado a pesar de pertenecer al mismo reino, debido a que además de la metodología planteada por el Manual de Bacteriología Analítica⁽³²⁾, se tomó en cuenta lo que prescribe la Norma Oficial Mexicana. NOM-111-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos, donde se especifica:” se deberá reportar por separado el resultado de la cuantificación de hongos y de levaduras”.

Dadas las condiciones de operación de los refrigeradores, las levaduras son las mejor favorecidas para su permanencia en las superficies, otra razón de peso

es que los mohos generan mayor importancia microbiológica, en cuanto a que ellos son productores de aflatoxinas, las cuales tras su ingestión, generan serios daños al organismo, inclusive capaces de provocar la muerte.

Esta determinación no posee normativa que la regule, debido a que a las temperaturas de refrigeración (5°C – 10 °C) no se espera crecimiento de Mohos y levaduras, sin embargo a través de esta investigación comprobamos su presencia.

5.3.3 Conteo de Coliformes totales

Cuadro N° 19: Conteo de coliformes totales encontrados en cada superficie muestreada

Recuento de coliformes totales	Superficie de Repisas	Superficie de Paredes	Superficie de Cajones	Porcentaje general	Según Norma Oficial Mexicana. NOM-093-SSA1-1994
	Porcentaje	Porcentaje	Porcentaje		
DNPC	75	40	70	62%	NO CUMPLEN
<200 UFC/cm ^{2*}	25	60	30	38%	CUMPLEN
TOTAL	100	100	100	100%	

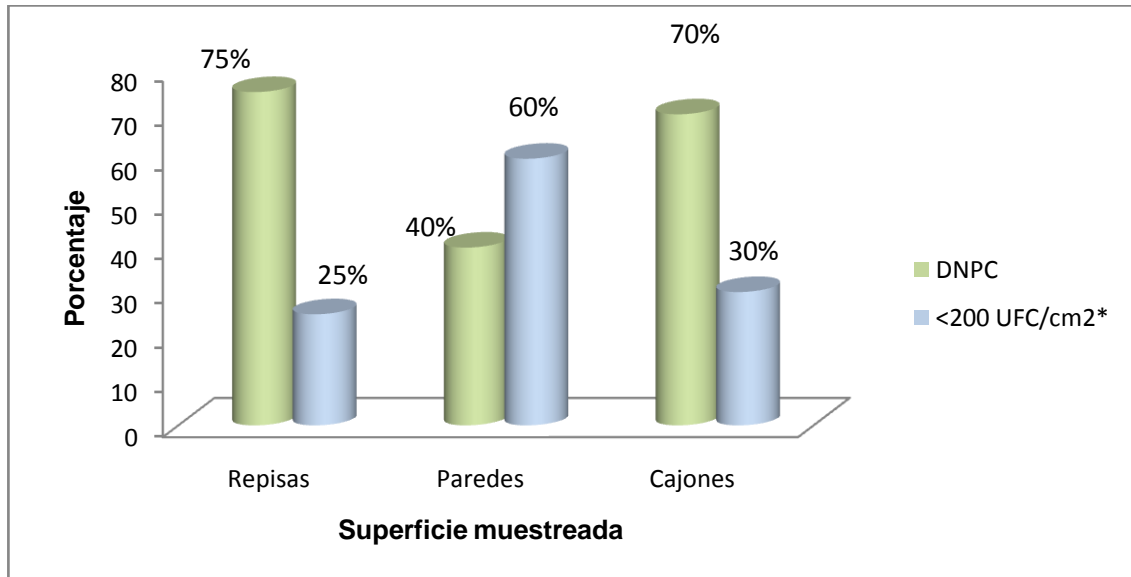


Figura N° 12: Registro del conteo de coliformes totales en cada superficie muestreada.

La figura N° 12 indica que un total de 38% de las muestras, distribuidas en un 25% de repisas, 60% de paredes y 30% de cajones, cumplen con lo establecido en la Norma Oficial Mexicana. NOM-093-SSA1-1994, por lo que las repisas con un 75%, seguido cercanamente por los cajones con un 70%, son las partes del refrigerador que más acumulación de coliformes totales poseen al nivel de tomarse como demasiado numerosos para ser contados. Este hecho se dá probablemente por la dificultad de limpieza de las repisas, y la acumulación de jugos y líquidos en los cajones. Las paredes al ser las que poseen una superficie más uniforme, son mas fáciles de higienizar y esto limita el crecimiento microbiano.

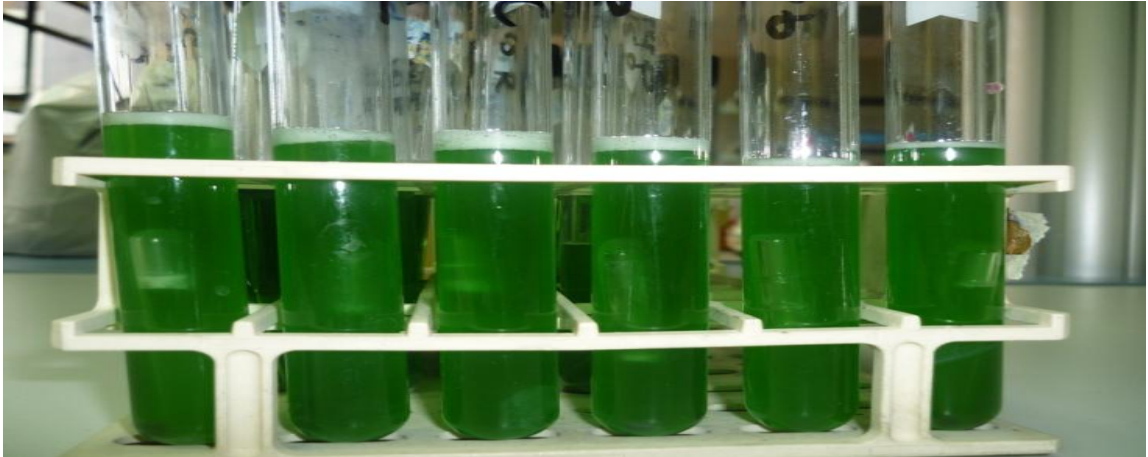


Figura N° 13: Tubos que indican la presencia de coliformes totales en caldo BGLB con presencia de turbidez y gas en las campanas de Durham.

5.3.5 Conteo de Coliformes fecales

Cuadro N° 20: Conteo de coliformes fecales en cada superficie del refrigerador analizadas.

CONTEO DE COLIFORMES FECALES	Superficies de Repisas	Superficies de Paredes	Superficies de Cajones	Porcentaje general
	Porcentaje	Porcentaje	Porcentaje	
DNPC	45	65	30	47%
<200 UFC/cm ²	55	35	70	53%
TOTAL	100	100	100	100%

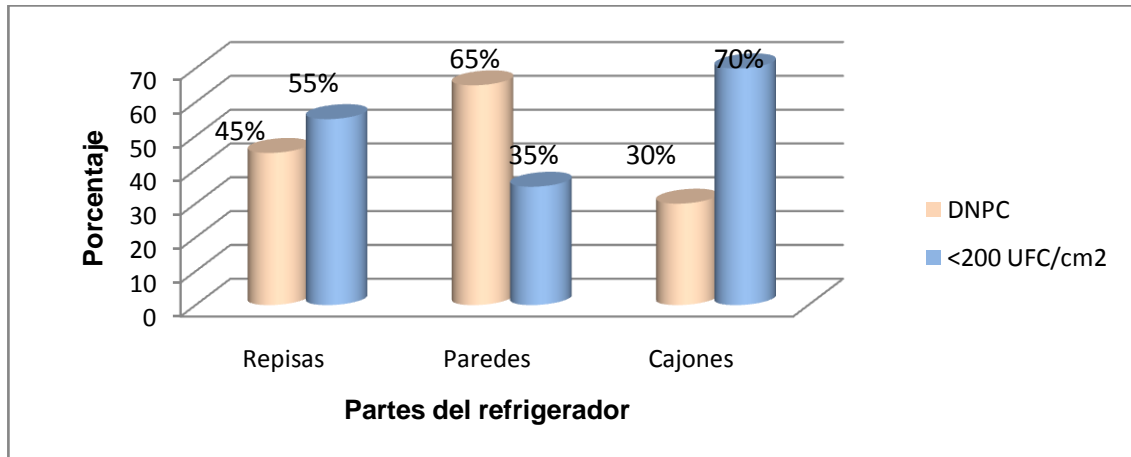


Figura N° 14: Gráfico que muestra la distribución en porcentaje de coliformes fecales en cada superficie muestreada.

En la figura N° 14, se aprecia que un 47% de las muestras, distribuidas en 45% de las repisas, 65% de paredes y 30% de cajones poseen valores excesivamente altos para ser contados en unidades formadoras de colonias(UFC), donde las paredes son las que aglomeran la mayor presencia en porcentaje (65%); en contraparte los cajones son los que tienen los valores más bajos ya que un 70% de los mismos tienen niveles <200 UFC.

Una vez más se corrobora que la necesidad de implementar prácticas higiénicas correctas y completas y un efectivo control de temperaturas en el refrigerador, se hace urgente para evitar la proliferación de microorganismos como coliformes fecales.

Cabe señalar que para esta determinación tampoco hay normativa que la ampare, se tomó como base lo que está establecido para coliformes totales, aunque sabemos que por la naturaleza de estos microorganismos el límite para los coliformes fecales debería ser menor.

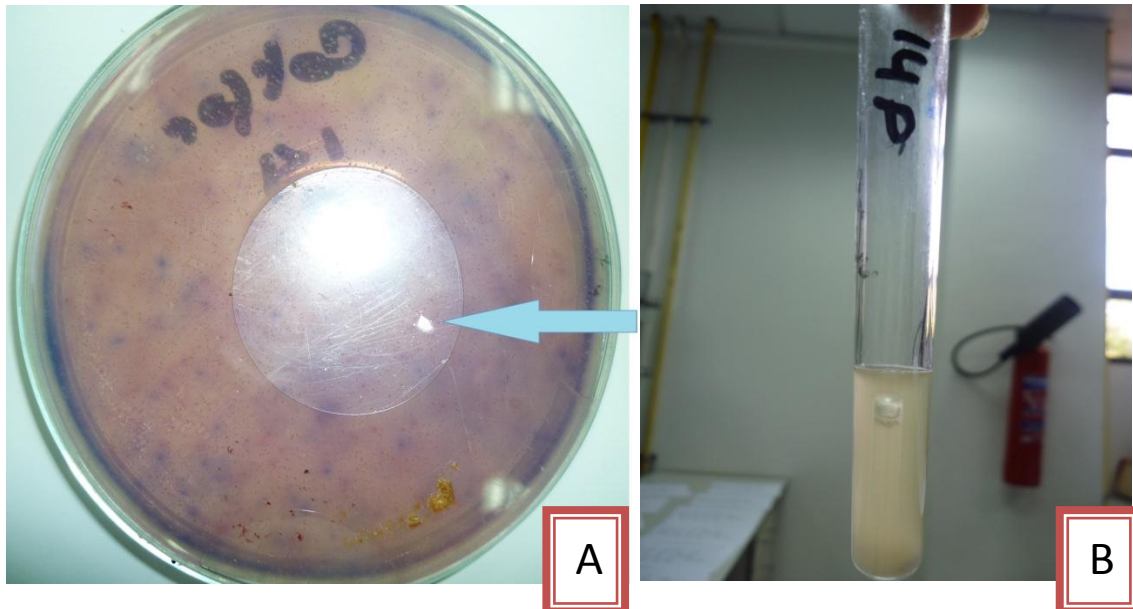


Figura Nº 15: A) Placa de agar Chromocult con colonias características de coliformes fecales de color morado, con la evidencia de gas en el medio.
 B) Prueba confirmativa con caldo EC que muestra turbidez y gas en campana de Durham

5.3.6 Presencia de patógenos

Cuadro Nº 21: Presencia de patógenos en las muestras

Microorganismo	Cajones	Repisas	Paredes
<i>Salmonella spp</i>	41%	44%	47%
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	33%	30%	27%
<i>E. coli</i>	13%	19%	13%
<i>Staphylococcus aureus</i>	8%	5%	13%
<i>Listeria monocytogenes</i>	5%	2%	0%

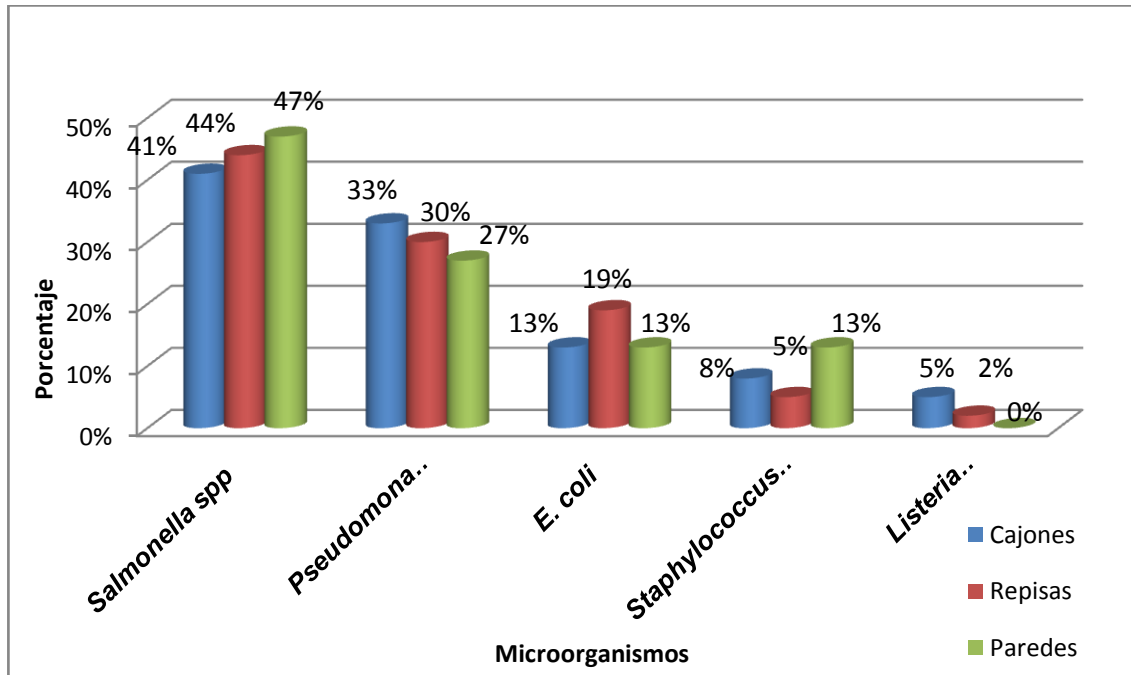


Figura N° 16: Gráfico que muestra los microorganismos patógenos que fueron encontrados en cada superficie del refrigerador analizados.

En la figura N° 16, podemos identificar que ***Salmonella spp.*** siendo el de mayor presencia en las muestras se identificó en más del 40% de cajones, repisas y paredes. ***Escherichia coli*** se encontró presente en un 19% de las repisas, y en 13% de paredes internas y cajones, ***Staphylococcus aureus*** en un 13% de las paredes, y en 8% y 5% de los cajones y repisas respectivamente. ***Pseudomona aeruginosa***, como segundo en ser mayormente encontrado se identificó en 33% de cajones, 30% de repisas y 27% de paredes y ***Listeria monocytogenes***, quien en un principio, tomando en cuenta las temperaturas bajas que se esperaban, se suponía sería el patógeno de mayor incidencia, solo se llegó a determinar en 5% de cajones y 2% de repisas, por lo que es el microorganismo de menor presencia.

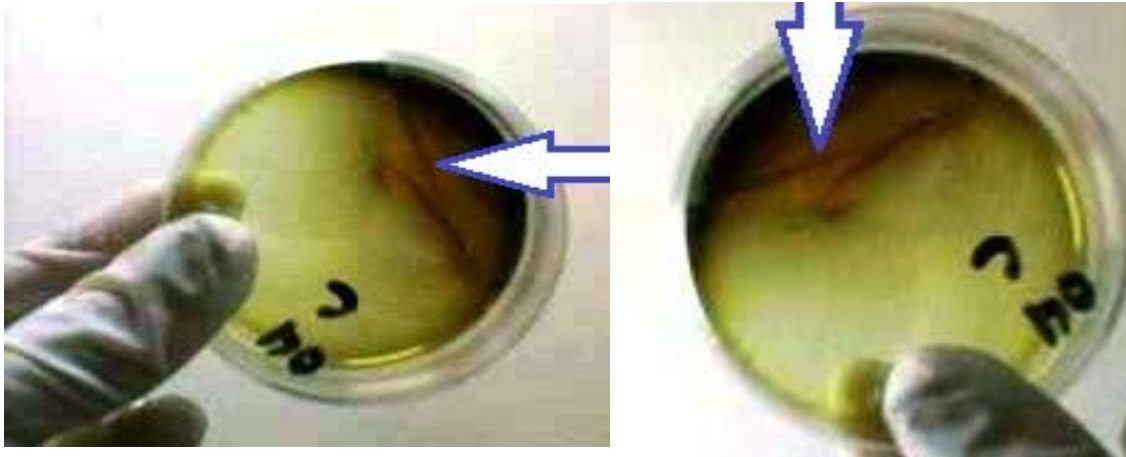


Figura N° 17: Crecimiento de *Listeria monocytogenes* en agar Oxford, colonias negras grisáceas omblcadas

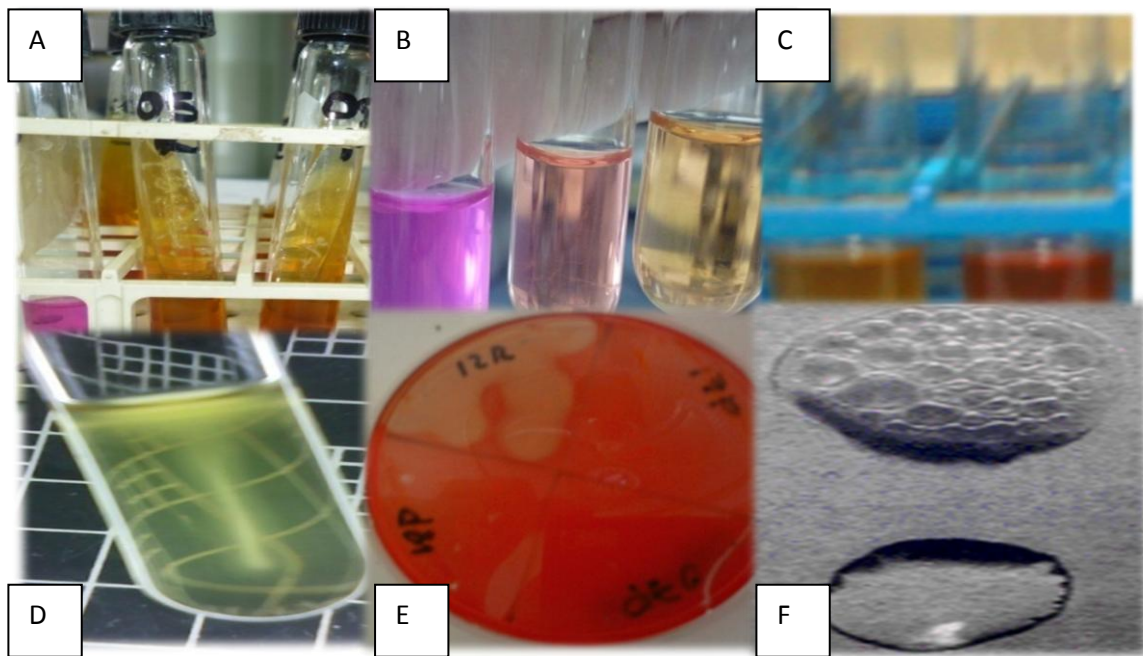


Figura N° 18: Pruebas bioquímicas para la identificación de *Listeria monocytogenes*.

- | | | |
|--------------|--------------|--------------------|
| A) TSI | B) Urea | C) Voges Proskauer |
| D) Movilidad | E) Hemólisis | F) Catalasa |

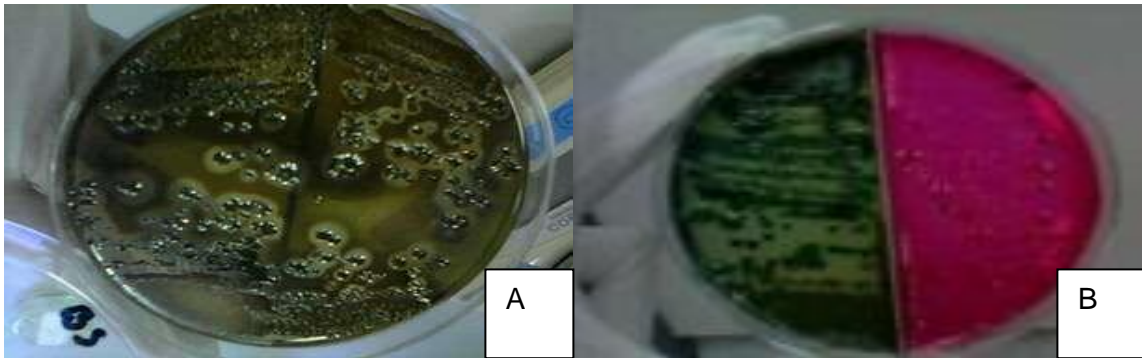


Figura N° 19: A) Placa con agar Bismuto sulfito con colonias características de *Salmonella spp.* Es decir, colonias negras-grisáceas que forman un espejo de plata en la superficie del agar.
 B) Placa de agar HE con colonias azul-verdosas con centro negro y XLD mostrando colonias rosadas transparentes con y sin centro negro.

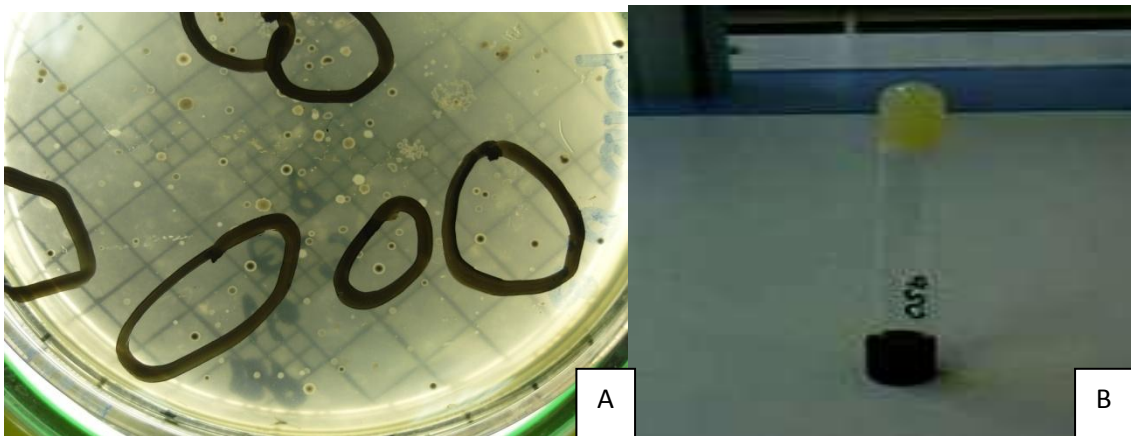


Figura N° 20: A) Placa con agar Baird Parker con colonias típicas de *Staphylococcus aureus* aspecto negro brillante o gris oscuro, con formación de halo alrededor de la colonia.
 B) Prueba confirmatoria de coagulasa, la cual forma un coagulo que no se deshace al invertir el tubo.

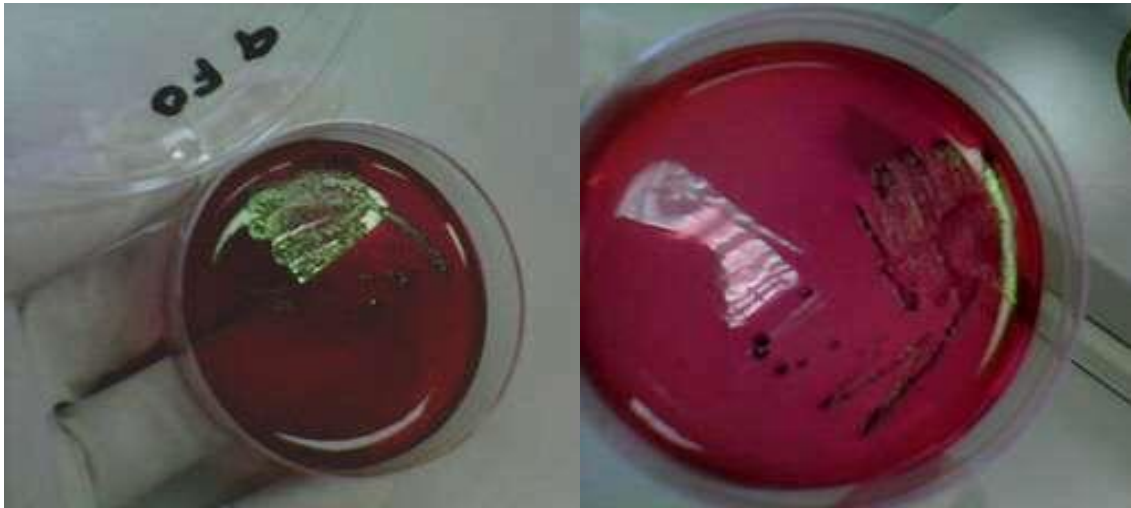


Figura N° 21: Placas de agar EMB con colonias características de *E. coli* con brillo verde metálico.

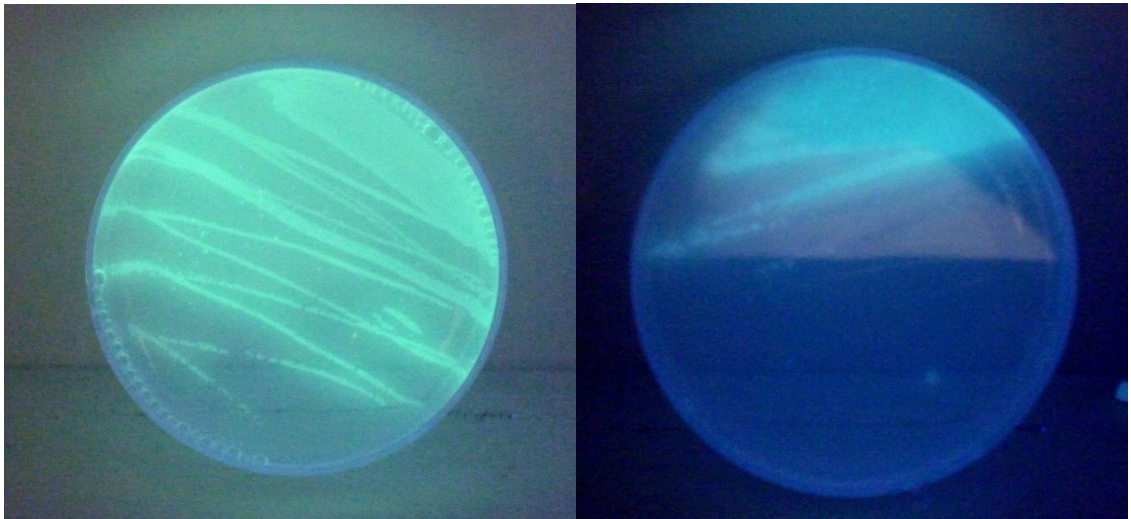


Figura N° 22: Placas con colonias típicas de *Pseudomonas aeruginosa* que presentan fluorescencia a la luz UV.

5.3.7 Consolidado de muestras que cumplen o no con normativa.

Se presenta a continuación el resumen general según el cumplimiento ó no con Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994.

Cuadro N° 22: Parámetros microbiológicos de las superficies de Cajones que cumplen ó no con normativa.

SUPERFICIES DE CAJONES			
Parámetros	% Cumple norma	% No cumple norma	Total
Mesófilos aerobios	15	85	100%
Coliformes totales	70	30	100%
<i>Salmonella spp</i>	59	41	100%
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	67	33	100%
<i>E. coli</i>	87	13	100%
<i>Staphylococcus aureus</i>	92	8	100%
<i>Listeria monocytogenes</i>	95	5	100%

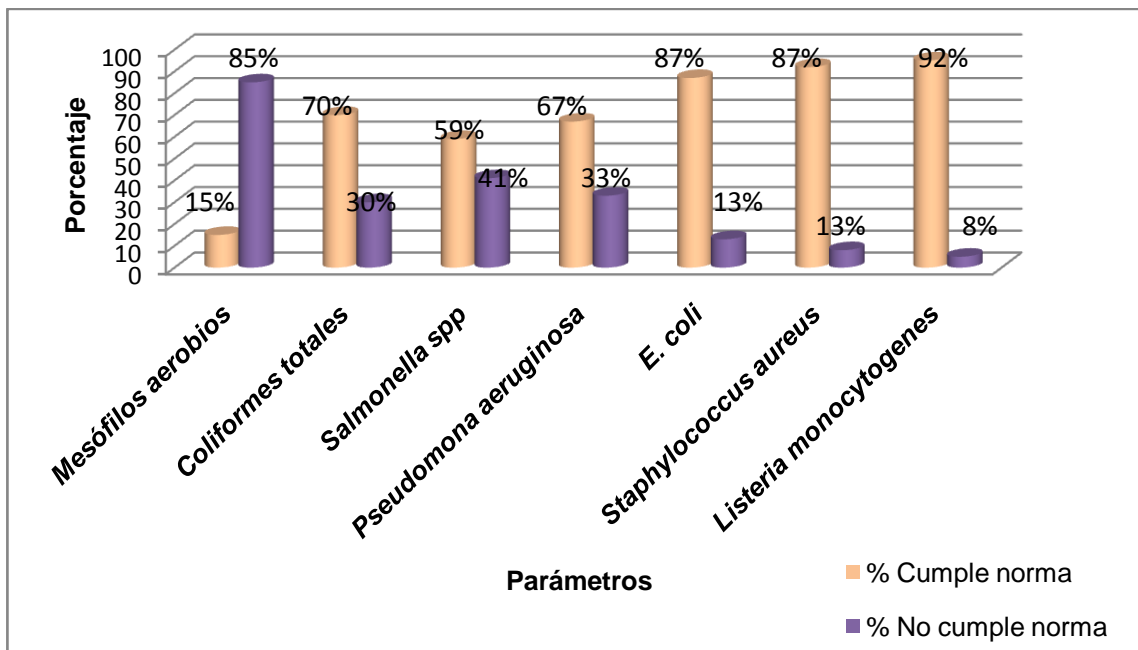


Figura N°23: Gráfico que muestra los parámetros microbiológicos de las superficies de cajones que cumplen ó no con normativa.

Cuadro N° 23: Parámetros microbiológicos de las superficies de Repisas que cumplen ó no, con la normativa establecida.

SUPERFICIES DE REPISAS			
Parámetros	% Cumple norma	% No cumple norma	Total
<i>Mesófilos aerobios</i>	20	80	100%
<i>Coliformes totales</i>	75	25	100%
<i>Salmonella spp</i>	56	44	100%
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	70	30	100%
<i>E. coli</i>	81	19	100%
<i>Staphylococcus aureus</i>	95	5	100%
<i>Listeria monocytogenes</i>	98	2	100%

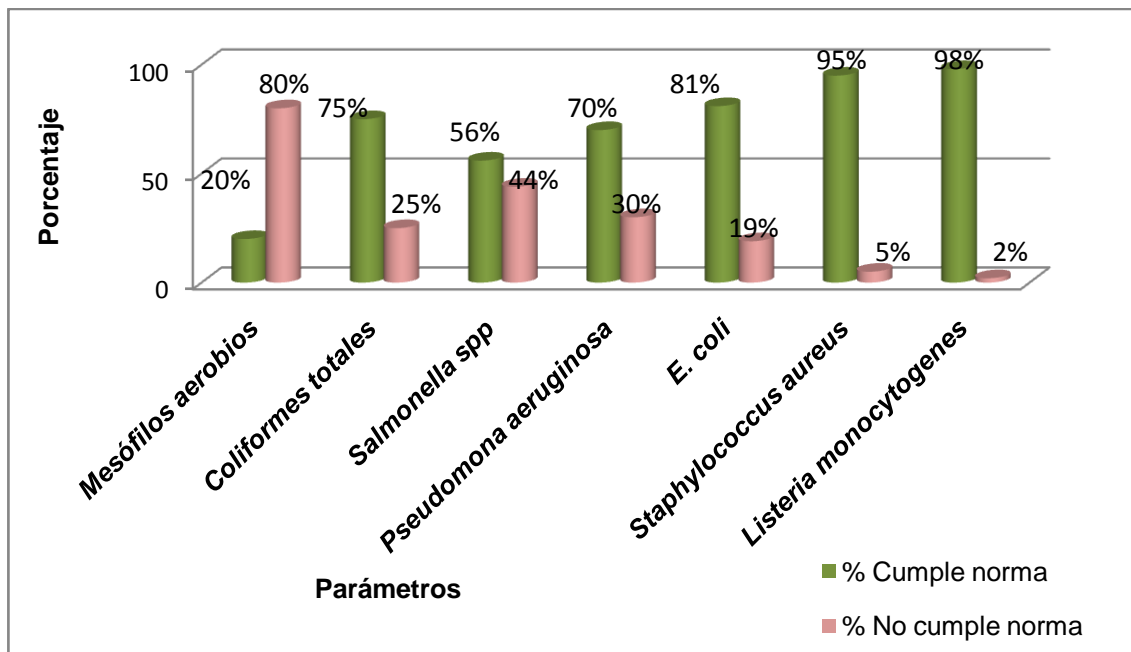


Figura N°24: Gráfico que ilustra los parámetros microbiológicos de las superficies de Repisas que cumplen ó no, con la normativa establecida.

Cuadro N° 24: Parámetros microbiológicos de las superficies de Paredes que cumplen ó no, con la normativa establecida.

SUPERFICIE DE PAREDES			
Parámetros	% cumple norma	% No cumple norma	Total
<i>Mesófilos aerobios</i>	35	65	100%
<i>Coliformes totales</i>	30	70	100%
<i>Salmonella spp</i>	53	47	100%
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	73	27	100%
<i>E. coli</i>	87	13	100%
<i>Staphylococcus aureus</i>	87	13	100%
<i>Listeria monocytogenes</i>	100	0	100%

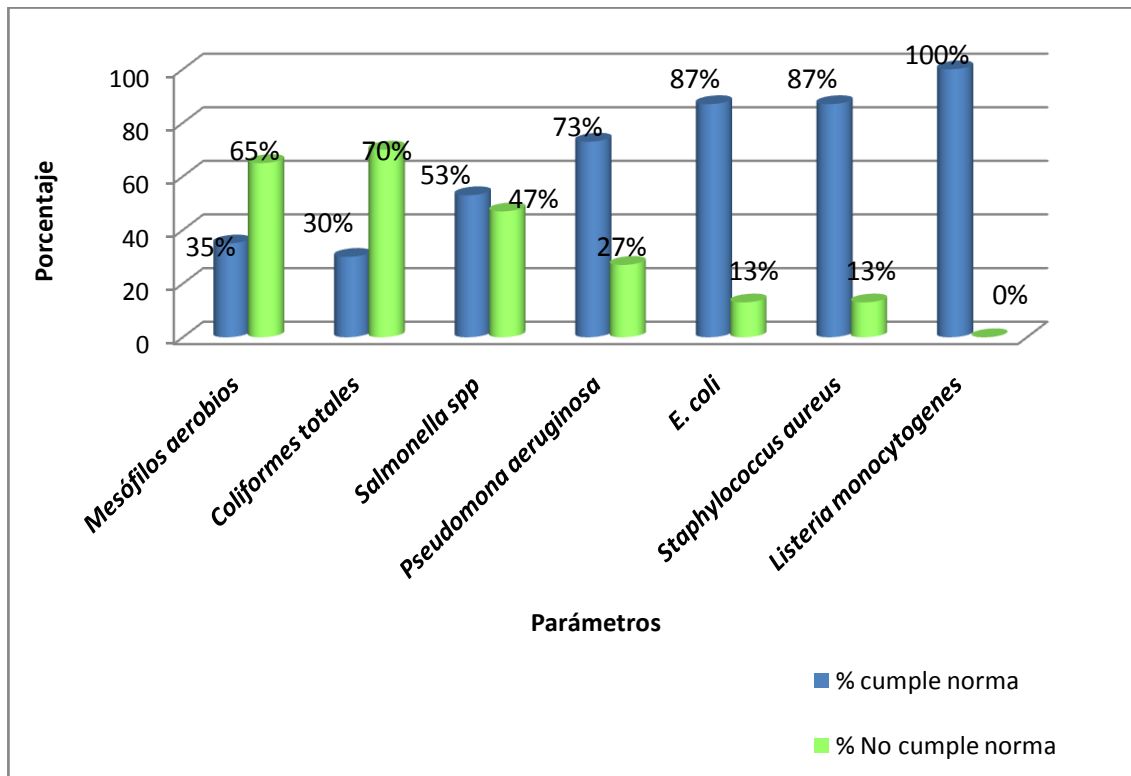


Figura N°25: Gráfico que ilustra los parámetros microbiológicos de las superficies de Paredes que cumplen ó no, con la normativa establecida.

Los datos que se ilustran en las figuras 22, 23 y 24 respectivamente, son los correspondientes al consolidado de resultados, donde generalizadamente son las muestras correspondientes a paredes internas las que poseen mayor cantidad de muestras que cumplen con la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, en todos los parámetros estudiados.

En general, ninguna de las muestras de superficies internas, tanto de cajones, repisas, como de paredes internas, están dentro de lo que establece la normativa, ya que, si se da el cumplimiento en cuanto a un parámetro, se incumplen los restantes. Esto deja en evidencia que los refrigeradores domésticos son buenos reservorios microbianos, de no cumplirse una rutina y frecuencia de limpieza y desinfección adecuados, además de no controlar las temperaturas que deben mantenerse para ser funcional.

Las determinaciones conteo de mohos y levaduras, y conteo de coliformes fecales, no han sido graficadas, debido a que ambos parámetros no se contemplan en esta normativa.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Los participantes en el estudio, reflejan un buen grado de conocimientos sobre Buenas Prácticas Higiénicas en el manejo y almacenamiento de los alimentos, pero esto difiere con lo visualizado en la práctica al observar las condiciones de operación y limpieza en las cuales mantienen los refrigeradores.
2. El resultado de la cuantificación de las bacterias mesófilas aerobias, coliformes totales, fecales, mohos y levaduras; está estrechamente ligado a las condiciones de operación y limpieza del refrigerador observadas; las cuales en ninguna de las muestras analizadas eran las adecuadas.
3. La temperatura ideal en la cual debe operar un refrigerador es menor o igual a 4° C, sin embargo los refrigeradores sometidos a estudio registraron valores mayores, llegando incluso a temperatura ambiente, de manera que no se está cumpliendo con el objetivo principal de la refrigeración.

4. La contaminación cruzada dentro del refrigerador, es una amenaza real, debido a la falta de orden y correcta limpieza de las superficies en estudio siendo las más contaminadas las superficies de cajones y repisas.

5. La presencia de patógenos con sus correspondientes porcentajes, en las superficies internas de cajones, repisas y paredes; son: ***Salmonella spp*** 41%, 44% y 47%, ***Staphylococcus aureus*** 8%, 5% y 13%, ***Escherichia coli*** 13%, 19%, y 13%, ***Pseudomona aeruginosa*** 33%, 30%, y 27% y ***Listeria monocytogenes*** en 5% de cajones y 2% de repisas respectivamente. Nos muestra que la contaminación procedente de los alimentos no es inhibida por las temperaturas de refrigeración, además de indicar una deficiente limpieza y aplicación de métodos correctos para su ejecución.

6. ***Listeria monocytogenes*** fue el patógeno con menor presencia, esto debido a que dicha bacteria posee exigencias y requerimientos estrictos para su crecimiento, donde las superficies internas muestreadas no constituyeron un buen hábitat. El patógeno mayormente encontrado fue ***Salmonella spp.***, ya que las condiciones que se manejan en los refrigeradores muestreados, favorecen su proliferación.

7. A pesar de que las superficies se muestren visiblemente limpias, es necesario eliminar la suciedad invisible, que está constituida por los microorganismos, mediante un protocolo eficaz de limpieza y desinfección.
8. Las muestras analizadas no cumplen con los parámetros que la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994 establece en la Guía Técnica para el análisis microbiológico de superficies de contacto con alimentos y bebidas.
9. Los participantes poseen una buena aceptación del tríptico de saneamiento y limpieza en el manejo y almacenamiento de alimentos en refrigeradores, ya que es aceptado como una herramienta útil, para mejorar sus prácticas higiénicas domésticas.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Que en los hogares se aplique una correcta limpieza y sanitización de las superficies en contacto con los alimentos, lo que incluye a las superficies internas del refrigerador, procurando respetar la frecuencia y un protocolo eficaz para realizar dicho proceso, de manera que se puedan disminuir posibles nichos de contaminación.
2. Procurar que los propietarios de los refrigeradores sean conscientes de los requerimientos de orden en su refrigerador, además de la importancia fundamental de mantener el control de temperaturas dentro de los valores recomendados que oscilan alrededor de los 4°C.
3. Hacer convenios con alcaldías, iglesias ó asociaciones comunales, para impartir capacitaciones a la población; sobre los cuidados requeridos para mantener un refrigerador y su contenido seguro de contaminaciones microbiológicas.
4. Realizar, por parte de las instituciones pertinentes, estudios de brotes en el país, que lleven a determinar el origen de las enfermedades de transmisión alimentaria, y así poder determinar el porcentaje de las que se originan en el seno del hogar por las malas prácticas de almacenamiento y

manipulación de los alimentos, en las que la refrigeración ejecuta un papel fundamental.

5. Evitar, en el refrigerador, el contacto de alimentos crudos con cocidos; colocando los alimentos en recipientes herméticos y así evitar contaminación cruzada. Además de procurar limpiar inmediatamente los derrames que pueden ser el origen de reservorios microbianos ó biofilms.
6. Realizar en un futuro análisis de la calidad microbiológica de otros instrumentos y/o aparatos que intervienen en el proceso de preparación, almacenamiento y disposición de los alimentos en el ambiente doméstico para reconocer otros posibles riesgos.
7. Realizar investigaciones a futuro que incluyan no solo refrigeradores de hogares sino los equipos de almacenamiento en frío de alimentos a nivel industrial (cuartos fríos, cámaras refrigerantes y refrigeradores).
8. Proponer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) la creación de una normativa aplicada a superficies en contacto con alimentos y bebidas dirigido a la industria de alimentos, que incluya los parámetros considerados en este estudio.

BIBLIOGRAFIA

1. Bower, C.K. y Daeschel, M.A.. Resistance responses of microorganisms in food environments. *International Journal of Food Microbiology*. 1999; 50(1-2):33-44p.
2. Bustos, JA. ***Staphylococcus aureus***: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. *Rev Biomed* 2006; 17:287-305p.
3. Foschino, R., Picozzi, C., Civardi, A., Bandini, M. y Faroldi, P.. Comparison of surface sampling methods and cleanability assessment of stainless steel surfaces subjected or not to shot peening. *Journal of Food Engineering*. 2003; 60(4):375-381p.
4. Frazier W.C y Westhoff D., *Microbiología de los alimentos*, 4 ed. Zaragoza, España. Editorial Acribia. 1994; 3-4,23-50,159-173p.
5. Gibson, H., Taylor, J.H., Hall, K.E., y Holah, J.T. Effectiveness of cleaning techniques used in the food industry in terms of the removal of bacterial biofilms. *Journal of Applied Microbiology*. 1999; 87(1):41-48
6. Grönholm, L., Wirtanen, G., Ahlgren, K., Nordström, K., y Sjöberg. Screening of antimicrobial activities of disinfectants and cleaning agents against foodborne spoilage microbes. *Z Lebensm Unters Forsch A*. 1999; 208:289-298p.

7. Hui, Y.H. The FDA's GMP's, HACCP, and the Food Code. En Food Plant Sanitation, Marcel Dekker, Inc. New York, 2003; 31-50p.
8. Jay, JM., Modern Food Microbiology, 7th ed. New York, United States of America, editorial Springer. 2005; 473-495p.
9. Kusumaningrum, H.D., Survival of foodborne pathogens on stainless steel surfaces and cross-contamination to foods. International Journal of Food Microbiology. 2003; 85(3):227-236p.
10. Langsrud, S., Sidhu, M.S., Heir, E., y Holck, A.L. Bacterial disinfectant resistance a challenge for the food industry. International Biodeterioration and Biodegradation. 2003; 51(4):283-290p.
11. Lewis, K. Riddle of biofilm resistance. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2001; 45(4):999-1007p
12. Malorny, B., y Russell, A.D. otros. Interlaboratory diagnostic accuracy of a **Salmonella** specific PCR-based method. International Journal of Food Microbiology. 2003.; 89(2-3):241-249p.
13. Merck. Microbiology Manual 12 th Edition. Merck KGaA. Germany 1994. 186, 191, 193, 207, 208, 272, 276, 304, 327, 379, 471, 474p.
14. Montville, TJ, Food Microbiology-An Introduction, Washington DC, United States, ASM Press. 2005; 70-77p.

15. Morton, RD., Aerobic plate count. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 4TH ed. American Public Health Association 2001;147-152p
16. McDonnell, G. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clinical Microbiology Reviews. 1999;12(1):147-179p.
17. Pelczar M.J y Reid R. Microbiología, 4 ed. Mexico D.F. Editorial MC Graw-Hill. 1982; 525-528p.
18. Reij MW y Den Aantrekker, E.D. Recontamination as a source of pathogens in processed foods. International Journal of Food Microbiology. 2004; 91(1):1-11p.
19. Talaro K., Microbiology, 2 ed, United States of America. 1992; 615-634p.
20. Sutherland, I.W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. Microbiology. 2001; 147:3-9p.
21. Tirado, C. y Schmidt, K. WHO Surveillance programme for control of foodborne infections and intoxications: preliminary results and trends across greater Europe. Journal of Infection. 2001; 43(1):80-84p.
22. Torres MR., Microbiología de los alimentos. Universidad de Guadalajara, México. 2009; 19-35p.

23. Trachoo, N. Biofilms and the food industry. *Journal Science Technology*. 2003; 25(6):807- 815p.
24. United States Pharmacopeia Convention, *Farmacopea de los Estados Unidos*, Edición 30. USP 30. 2007; 893, 940, 868p.
25. Wirtanen, G. y Salo, S. Disinfection in food processing - efficacy testing of disinfectants. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*. 2003; 2:293-306p.
26. Azevedo I, Regalo M, Mena C, Almeida G, Carneiro L, Teixeira P, et al; “Incidencia de *Listeria spp.* en refrigeradores domésticos en Portugal” *Science Direct Food Control* [revista en línea] 2003 [Consultado el 10 de agosto de 2010]. 16(2005):121-124. Disponible en www.sciencedirect.com
27. Arzú, Oscar R., Peiretti, Hugo A., Rolla, Ricardo A., Roibón, Walter R., Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de manipuladores en áreas de producción de un supermercado del Nordeste Argentino, *Revista Argentina de Microbiología* [revista en línea] 2009 [Consultado el 16 de agosto de 2010]. (2009) 41: 237-244. Disponible en: <http://www1.unne.edu.ar/cyt/2002/04-Veterinarias/V-063.pdf>

28. ASPEC (Asociación Peruana de Consumidores y Usuarios). inocuidad en los alimentos, [monografía en línea] 2010 [consultado el 20 de agosto de 2010].
Disponible en: <http://www.aspec.org.pe/content/blogcategory/7/5/>
29. Camacho, A., Giles M., Ortegón A., Palao M., Serrano B. y Velázquez O. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México. 2009. [consultado el 20 de abril de 2010].
Disponible en: http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Cuenta-mohos-levaduras_6530.pdf
30. Contreras G. V. Prevalencia e incidencia. [Internet] Consultado el 15 de abril de 2011. Disponible en: <http://es.mimi.hu/medicina/prevalencia.html>
31. FAO/WHO. (Food and Agriculture Organization/ World Health Organization) Codex Alimentarius. Basics Texts Food Hygiene. Recommended International Code of Practice General Principles of Food Hygiene. [Sede Web] CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003, (3):1. [consultado el 7 de agosto de 2010]. Disponible en: ftp://ftp.fao.org/codex/Publications/Booklets/Hygiene/FoodHygiene_2003e.pdf
32. Food on Drug Administration. Bacteriological Analytical Manual (BAM). , [sede web] EE.UU. 2010. [Consultada el 20 de Diciembre de 2010].
Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/default.html>.

33. Fueyo JM. Frecuencia y tipos de toxinas superantígenos en ***Staphylococcus aureus*** de diferentes orígenes: relaciones con tipos genéticos. [Tesis Doctoral en línea], Oviedo, España, 2005 1-5p. Consultada el 20 de Diciembre de 2010]. Disponible en: http://www.tesisenred.net/TDR-0426107-084149/index_ga.html
34. Fuster i Valls N. Importancia del control higiénico de las superficies alimentarias mediante técnicas rápidas tradicionales para evitar y/o minimizar las contaminaciones cruzadas. [Tesis Doctoral en línea], España, Universidad Autónoma de Barcelona. España 2006, 13-29p. [consultada el 7 de agosto de 2010]. Disponible en, http://www.tesisenxarxa.net/TDX-1005107-165210/index_an.ht
35. García R. M, Cabellos S. P.; Martínez C. M. y García J. A. Guía de ARCPD y prácticas correctas de higiene y Manipulación en restauración colectiva. Consultado el 22 de agosto de 2010. Disponible en: <http://www.murciasalud.es/recursos/ficheros/4301-calidad.pdf>
36. (MSPAS) Ministerio de salud y asistencia social. El Salvador. Vigilancia epidemiológica año 2009. Consultado el 3 de marzo de 2011. Disponible en: <http://www.salud.gob.sv/index.php/temas/politicas-sectoriales/vigilancia-sanitaria/vig-de-salud-publica/vig-epi>

37. Ministerio de salud. Perú. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas, Norma Peruana. 2007. Consultada el 10 de septiembre de 2010. Disponible en: <http://www.speas.biz/downloads/rm4612007sa.pdf>
38. National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). Health Science Topics. Foodborne Diseases. [Internet] 2007. Consultado el 31 de Julio de 2010. Disponible en: <http://www3.niaid.nih.gov/healthscience/healthtopics/foodborne/default.htm>
39. OMS (Organización Mundial de la Salud) Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos. WHO Press. Ginebra, Suiza. [Internet] Consultado el 15 de agosto de 2010. Disponible en: www.who.int/foodsafety/consumer/5keys/en/index.html
40. Outagamie countie Health and Human Services. Public Health Division, [Internet] consultada el 18 de agosto de 2010. Disponible en: http://www.co.outagamie.wi.us/human_services/HHS%20Manual.pdf
41. Rosas RM, Contaminaciones alimentarias, cuadros principales, tratamiento y prevención, OFFARM [Internet], 2007.; 26(6):96-100p. Consultado el 02 de octubre de 2010. Disponible en: http://www.senba.es/recursos/toxiinfecciones/contaminacion_biotica.htm

42. Salas Vázquez, DI. Evaluación de metodologías de control higiénico de superficies alimentarias y adaptación de la PCR en tiempo real como método de control de patógenos. [Tesis doctoral en línea]. Barcelona, España, Universitat Autònoma de Barcelona. 2007 consultada el 7 de agosto de 2010. Disponible en:<http://www.tesisenxarxa.net/TDX-0925109-134423/>
43. Secretaria de salud. México. Norma Oficial Mexicana. NOM-093-SSA1-1994. Prácticas de Higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. [Internet]. Consultada el 02 de septiembre de 2010. Disponible en:<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/093ssa14.html>
44. Signorini ML, Frizzo L. S., Modelo de contaminación cruzada por ***Escherichia coli*** verocitotoxigénica durante la elaboración de hamburguesas caseras y evaluación cuantitativa de riesgos. [Internet]. 2006 Consultada el 16 de agosto de 2010. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pidS032575412009000400008&script=sci_arttext
45. (SIRVETA) Sistema Regional de Vigilancia Epidemiológica de las ETA
Consultada el 23 de abril de 2011. [Internet]. Disponible en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa_calidad/ME%20%20ETA%20INPPAZ.pdf

46. USDA. (Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos Departamento de Agricultura de los Estados Unidos). Información sobre inocuidad de los alimentos. [Internet] Consultada el 15 de agosto de 2010. disponible en:<http://www.concitver.com/archivosenpdf/sistemadeinocuidadycalidadalimentariaenUSA.pdf>
47. World Health Organization. 2006a. Consultation to develop a strategy to estimate the global burden of foodborne diseases. Taking stock and charting the way forward 1[Internet]. Consultado el 31 de Julio de 2010. Disponible en: http://www.who.int/foodsafety/publications/foodborne_disease/fbd_2006.pdf
48. World Health Organization. Food safety and foodborne illness, Fact sheet N° 237 [Internet]. 2007.Consultado el 8 de agosto de 2010. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/636/63613118002.pdf>
49. http://www.bfr.bund.de/internet/8threport/8threp_fr.html...Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications in Europe, Eighth Report 1999-2000. [revista en linea] 2003 [Consultado el 4 de agosto de 2010]. Disponible en: http://www.bfr.bund.de/internet/8threport/8threp_fr.html

50. http://www.bvsde.paho.org/cdgdwq/docs_microbiologicos/Bacterias%20PDF/Pseudomonas.pdf ***Pseudomona aeruginosa***. Consultada el 2 de ... enero del 2011.
51. <http://www.encyclopediasalud.com/definiciones/prevalencia/>. Definición de prevalencia e incidencia. Consultado el 20 de abril de 2011.
52. <http://www.health.gov.on.ca>. Manipulación segura de los alimentos, 2007. Consultado el 18 de agosto de 2010.
53. <http://www.lasalud.biz> LaSalud.biz - Guía de la Salud, Fitness Trucos y Consejos. Una amenaza invisible en casa. Consultado el 14 de agosto de 2010.
54. <http://www.mineduc.cl/usuarios/cuarta/doc/200508310945190.InformeFinal.pdf>. Estudio Prospectivo. Sistema de enseñanza media técnico profesional de la Región de Coquimbo al año 2013. [Internet] [Consultada el 20 de Diciembre de 2010].
55. <http://www.monografias.com/trabajos39/muestreotadistico/muestreoestadistico.shtm> Muestreo errático. Consultado el 17 de septiembre de 2010.
56. http://www.mundocursos.com/cursos_gratis_manipulador_de_alimentos_en_salamanca_slcprov_key1460 Técnicas sanitarias para trabajadores al servicio de alimentos, consultada el 19 de agosto de 2010.

57. <http://www.ozono21.blogspot.com/2009/01/contaminacin-cruzada-en-lacocina.html>. Contaminación cruzada en la cocina. [Internet] [Consultada el 30 de septiembre de 2010]. Disponible en <http://ozono21.blogspot.com/2009/01/contaminacin-cruzada-en-la-cocina.html>.
58. <http://www.publispain.com/dietas/enfermedadesalimentarias.html>. Enfermedades causadas por alimentos y consecuencias. [Internet] Consultada el 30 de septiembre de 2010. Disponible en <http://www.publispain.com/dietas/enfermedadesalimentarias.html>.
59. <http://www.salud.bioetica.org/enfalimentarias.htm>. Enfermedades Alimentarias. [Internet] Consultado el 5 de octubre de 2010. Disponible en <http://www.salud.bioetica.org/enfalimentarias.htm>.
60. <http://www.terra.com/salud/articulo/html/sal11378.htm>. Los principales 10 patógenos. Consultada el 3 de Enero de 2011. Disponible en: <http://www.terra.com/salud/articulo/html/sal11378.html>

GLOSARIO

Aflatoxinas: micotoxinas producidas por *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* y *Aspergillus nomius*.⁽²⁹⁾

Brote: el brote de una enfermedad transmitida por los alimentos ocurre cuando un grupo de personas consume el mismo alimento contaminado y dos o más de ellas contraen la misma enfermedad. ⁽³¹⁾

Flagelos peritricos: Son apéndices largos y delgados de unos 5-10 micras de longitud y 20nm de diámetro que rodean el perímetro de la célula. Están compuestos por proteínas específicas como son la flagelina y la pilina. Son filamentos helicoidales y agentes del movimiento. La velocidad es de 10 cuerpos celulares por segundo. ⁽¹⁷⁾

Incidencia: variable que en medicina concierne al número de casos nuevos que surgen en un área geográfica determinada, y en un período de tiempo establecido. ^(30,49)

INViC: Prueba utilizada en microbiología para reconocer bacterias. Se compone de cuatro pruebas: Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato. El resultado de este test se expresa mediante cuatro símbolos de suma o resta (+ o -) según el resultado de cada prueba, siguiendo siempre el orden establecido por las iniciales del método. Así por ejemplo, el IMViC de la bacteria

Salmonella y **Citrobacter** es -+++. Para **E.coli** es ++-- y para **Klebsiella** y **Enterobacter** es ---+.(22)

Micotoxinas: metabolito tóxico producido generalmente por mohos del género **Aspergillus**. (29)

Pectinas: son una mezcla de polímeros ácidos y neutros muy ramificados. Constituyen el 30% del peso seco de la pared celular primaria de células vegetales. En presencia de agua forman geles. (8)

Prevalencia: variable que en medicina mide la proporción de personas que en un área geográfica y período de tiempo establecidos, sufren una determinada enfermedad. Esta se calcula dividiendo el número de individuos que padecen el transtorno, entre el número total de habitantes del área considerada, incluyendo a los que la padecen. (30,49)

ANEXOS

ANEXO N°. 1

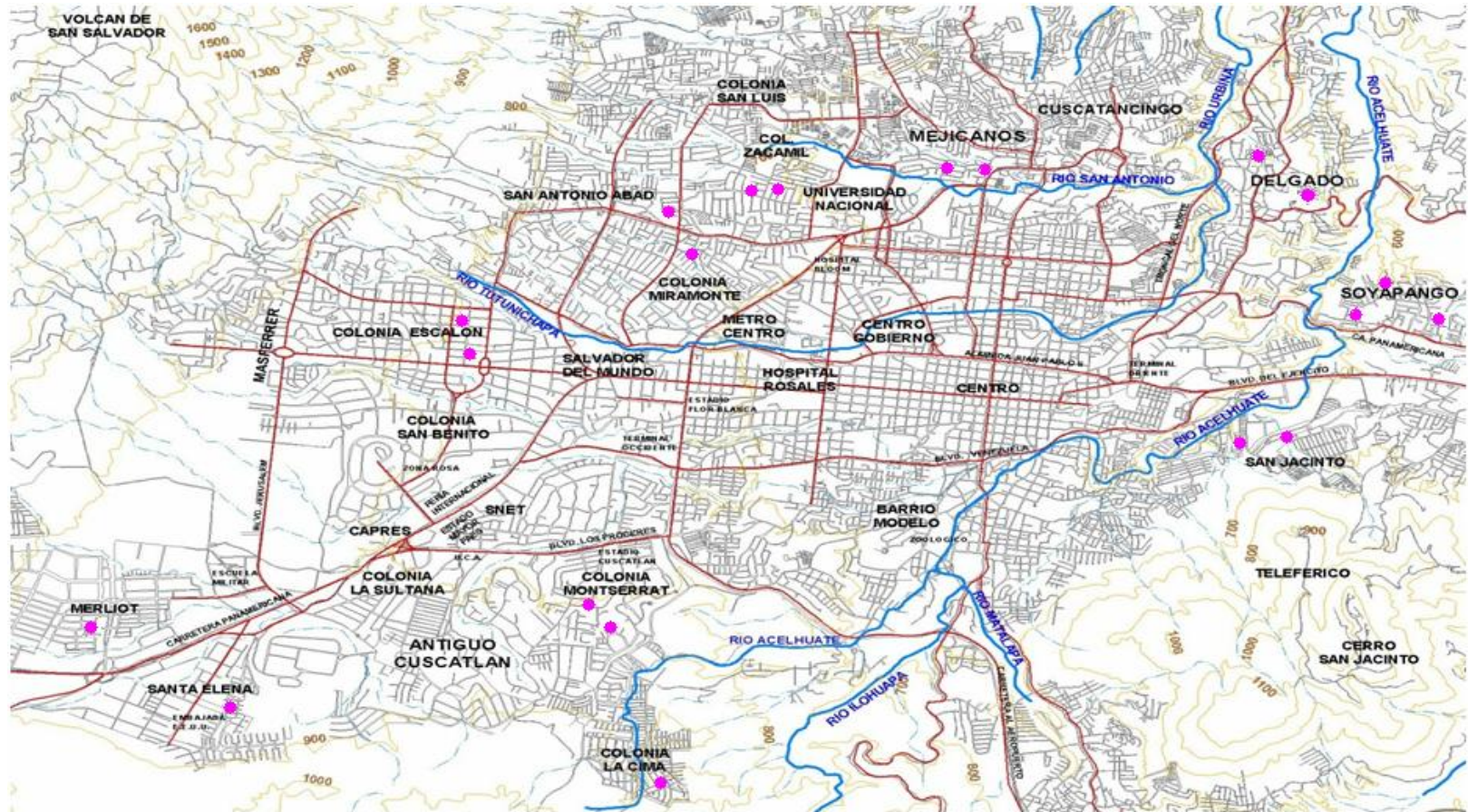


Figura N°26 Área Metropolitana de San Salvador

(●) Indica el hogar muestreado dentro del mapa del área metropolitana de San Salvador.

ANEXO No. 2


HOJA DE CONSENTIMIENTO

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA
HOJA DE CONSENTIMIENTO



Yo Sonia Guadalupe Sánchez de Rivas, he leído el contenido de esta hoja y he sido informado sobre el tema de investigación que realizan las alumnas egresadas de la carrera: Licenciatura en Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador: Claudia Lissette Alberti Arroyo, y Mirssa Nubia Hernández Ayala, denominado: "Determinación de la Calidad Microbiológica de refrigeradores en hogares del área metropolitana de San Salvador".

Se me ha explicado que no habrá ninguna consecuencia desfavorable en caso de no aceptar participar en el estudio, que mi decisión de participar es completamente voluntaria, que no recibiré, ni haré pago alguno por mi participación, que durante el transcurso del desarrollo del estudio podré solicitar información actualizada sobre el mismo a las investigadoras responsables, y mi firma en este documento certifica mi total acuerdo a colaborar en dicha investigación.

Firma: 

Fecha: 05-12-10

ANEXO N° 3
ENTREVISTA SOBRE
BUENAS PRACTICAS HIGIENICAS

231102



UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



Entrevista sobre conocimientos de inocuidad

Genero de persona encuestada: F M

Domicilio del encuestado(a)

Calle. 79 avenida norte

Sector. "B"

Colonia. Escalón

INDICACION: marque con una "X" en la casilla según corresponda

1. ¿Qué método utiliza para descongelar alimentos?

- | | |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> a) Deja enfriar en la mesa. | <input checked="" type="checkbox"/> e) En refrigeración. |
| <input checked="" type="checkbox"/> b) Sumergido en agua. | <input type="checkbox"/> f) Cocina los alimentos congelados. |
| <input type="checkbox"/> c) En el microondas. | |
| <input type="checkbox"/> d) Debajo del chorro de agua. | |

2. ¿Qué hace con los alimentos que no se sirven inmediatamente después de cocinados?

- | | |
|--|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> a) Enfría, tapa y refrigera inmediatamente. | |
| <input type="checkbox"/> b) Deja en la mesa hasta enfriar y luego refrigera. | |
| <input type="checkbox"/> c) Tapa y refrigera inmediatamente sin enfriar. | |
| <input type="checkbox"/> d) Deja en la mesa para servir posteriormente. | |
| <input type="checkbox"/> e) Cambia de envase sin tapar hasta que enfríe y refrigera. | |
| <input type="checkbox"/> f) Mantiene caliente hasta su consumo. | |

501185

3. ¿Qué hace antes de servir sobrantes de alimentos?

- a) Calienta hasta que salga vapor.
- b) Calienta hasta que esté suficientemente caliente para comer.
- c) No calienta los sobrantes de alimentos.
- d) No guarda sobrantes de alimentos.
- e) Coloca en la mesa por un tiempo y luego calienta hasta que salga vapor.
- f) Coloca en la mesa por un tiempo y luego calienta hasta que esté suficientemente caliente para comer.

4. ¿Se lava las manos antes de preparar alimentos?

- a) Siempre.
- b) Generalmente.
- c) Casi siempre.
- d) Algunas veces.
- e) Rara vez.
- f) Nunca.

5. ¿Se lava las manos después de manipular alimentos?

- a) Siempre.
- b) Generalmente.
- c) Casi siempre.
- d) Algunas veces.
- e) Rara vez.
- f) Nunca.

6. ¿Utiliza la misma tabla de cortar para todos los alimentos?

- a) Siempre.
- b) Generalmente.
- c) Casi siempre.
- d) Algunas veces.
- e) Rara vez.
- f) Nunca.

7. ¿Lava la tabla de cortar después de usarla?

- | | |
|---|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> a) Siempre. | <input type="checkbox"/> d) Algunas veces. |
| <input type="checkbox"/> b) Generalmente. | <input type="checkbox"/> e) Rara vez. |
| <input type="checkbox"/> c) Casi siempre. | <input type="checkbox"/> f) Nunca. |

8. ¿Lava el cuchillo después de usarlo?

- | | |
|---|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> a) Siempre. | <input type="checkbox"/> d) Algunas veces. |
| <input type="checkbox"/> b) Generalmente. | <input type="checkbox"/> e) Rara vez. |
| <input type="checkbox"/> c) Casi siempre. | <input type="checkbox"/> f) Nunca. |

9. ¿Cuál es la frecuencia con la que realiza la limpieza y desinfección de su refrigerador?

- a) Diariamente
- b) 2 veces por semana
- c) Semanalmente
- d) Quincenalmente
- e) Mensualmente
- f) Mayor a un mes.

10. ¿Qué método utiliza para realizar la limpieza y desinfección de su refrigerador?

Describalo:

Lavado con lejía

ANEXO N°. 4
HOJA DE INSPECCIÓN OCULAR



Universidad de El Salvador
Hacia la libertad por la cultura

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



EVALUACION SANITARIA DE REFRIGERADORES DE HOGARES

Fecha: 23 nov 2010

Código: **23102**

Hora: 6:30 pm

Persona que toma la muestra: Claudia Alberti

Genero de persona encuestada: F: M:

Domicilio del encuestado (a)

Calle: 79 avenida norte

Sector: "B"

Colonia: Escalón

CONDICIONES GENERALES DE REFRIGERADOR:

LIMPIEZA

PAREDES INTERNAS:

Limpio

Sucio

Observaciones: Poca cantidad de restos de alimentos adherida

CAJONES:

Limpio

Sucio

Observaciones: Semi vacíos, presencia de insectos (mosquitos) verduras no clasificadas

REPISAS:

Limpio

Sucio

Observaciones: Levemente sucias, 3 de 4 vacíos, presencia de insectos

ORDEN

CAJONES:

Ordenado
Desordenado

Observaciones: Verduras colocadas en cajones pero no clasificadas.

REPISAS:

Ordenado
Desordenado

Observaciones: Huevos colocados en la respectiva repisa, demás repisas vacías.

USO DE CAPACIDAD

	4/4	3/4	1/2	1/4
Repisas				<input checked="" type="checkbox"/>
Cajones				<input checked="" type="checkbox"/>

REGISTRO DE LA TEMPERATURA DEL REFRIGERADOR

	Repisa superior	Repisa media	Repisa inferior	Verdulera y/o cajones
Temperatura	15°	15°	15°	18°

ANEXO N° 5

CODIFICACION DE MUESTRAS Y

CONSOLIDADO DE MUESTRAS

Cuadro N° 25: Consolidado y codificación de muestras.

N° DE MUESTRA	CONTEO DE MESOFILOS	MOHOS Y LEVADURAS	COLIFORMES TOTALES FECALES	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
01-R	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
01-P	DNPC	DNPC LEVADURAS	0	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
01-C	DNPC	3 MOHOS DNPC LEVADURAS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
02-R	DNPC	4800 LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
02-P	280	400 LEVADURAS 0 MOHOS	5	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
02-C	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	160	Presencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
03-R	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
03-P	DNPC	4 MOHOS 400 LEVADURAS	0	Ausencia	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
03-C	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
04-R	DNPC	1 MOHO 600 LEVADURAS	40	Presencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
04-P	23	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	0	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
04-C	DNPC	600 LEVADURAS 8 MOHOS	13	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
05-R	DNPC	2000 LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
05-P	DNPC	160 LEVADURAS 26 MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
05-C	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia

Se utiliza la misma columna para el registro de coliformes totales y fecales, considerándose como coliformes totales aquellos que no poseen la palabra fecales.

Continuación de cuadro N° 25

N° DE MUESTRA	CONTEO DE MESOFILOS	MOHOS Y LEVADURAS	COLIFORMES TOTALES FECALES	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
06-R	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
06-P	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
06-C	DNPC	DNPC LEVADURAS 2 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
07-R	DNPC	DNPC LEVADURAS 6 MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
07-P	DNPC	220 LEVADURAS 1 MOHO	DNPC TOTALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
07-C	DNPC	DNPC LEVADURAS 7 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
08-R	DNPC	74 LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
08-P	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
08-C	DNPC	260 LEVADURAS 4 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
09-R	DNPC	DNPC LEVADURAS 32 MOHOS	130 FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
09-P	32	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	0	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
09-C	DNPC	600 LEVADURAS 0 MOHOS	0	Ausencia	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
10-R	DNPC	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	33	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
10-P	DNPC	10 LEVADURAS 2 MOHOS	0	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
10-C	160	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Se utiliza la misma columna para el registro de coliformes totales y fecales, considerándose como coliformes totales aquellos que no poseen la palabra fecales.

Continuación de cuadro N° 25

N° DE MUESTRA	CONTEO DE MESOFILOS	MOHOS Y LEVADURAS	COLIFORMES TOTALES FECALES	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
11-R	DNPC	4 LEVADURAS 1 MOHO	3 TOTALES	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
11-P	160	DNPC LEVADURAS 1 MOHO	4 TOTALES	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
11-C	80	DNPC MOHOS 0 LEVADURAS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
12-R	10	5 LEVADURAS 4 MOHOS	0	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Presencia
12-P	DNPC	1 MOHO 0 LEVADURAS	0	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
12-C	14	DNPC MOHOS 0 LEVADURAS	0	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia
13-R	DNPC	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	13 FECALES	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
13-P	DNPC	0	3 FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
13-C	DNPC	0	DNPC TOTALES	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
14-R	DNPC	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
14-P	DNPC	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
14-C	DNPC	DNPC MOHOS DNPC LEVADURAS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
15-R	200	18 LEVADURAS 1 MOHO	7 FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
15-P	160	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	2 TOTALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
15-C	DNPC	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	80 FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia

Se utiliza la misma columna para el registro de coliformes totales y fecales, considerándose como coliformes totales aquellos que no poseen la palabra fecales.

Continuación de cuadro N° 25

N° DE MUESTRA	CONTEO DE MESOFILOS	MOHOS Y LEVADURAS	COLIFORMES TOTALES FECALES	<i>E. coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Salmonella spp</i>	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
16-R	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
16-P	DNPC	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
16-C	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
17-R	DNPC	16 LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
17-P	DNPC	12 LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
17-C	DNPC	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
18-R	DNPC	10 LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
18-P	DNPC	DNPC LEVADURAS 0 MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
18-C	DNPC	0 MOHOS 9 LEVADURAS	DNPC FECALES	Presencia	Presencia	Presencia	Presencia	Ausencia
19-R	DNPC	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	120 FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
19-P	50	21 LEVADURAS 2 MOHOS	9 FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
19-C	DNPC	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	DNPC FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Presencia
20-R	200	DNPC LEVADURAS DNPC MOHOS	14 FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Presencia	Ausencia
20-P	120	24 LEVADURAS 0 MOHOS	20 FECALES	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia
20-C	200	DNPC LEVADURAS 1 MOHO	0	Ausencia	Ausencia	Presencia	Ausencia	Ausencia

Se utiliza la misma columna para el registro de coliformes totales y fecales, considerándose como coliformes totales aquellos que no poseen la palabra fecales.

ANEXO N°. 6

Tabla N°4 Normativa aplicable a análisis de superficies

ENSAYO	NORMA*
Coliformes Totales	< 200 UFC/cm ²
Mesofilos aerobios	< 400 UFC/cm ²
Patógenos	Ausencia

Nota: No existen normativas para la determinación de coliformes fecales, conteo de Mohos y Levaduras, ni especificación de los patógenos.

*Norma Oficial Mexicana. NOM-093-SSA1-1994

ANEXO N° 7
ESQUEMAS DE TRABAJO PARA
ETAPA EXPERIMENTAL

Tomar 1 muestra, mediante torunda humedecida con AP de cada parte estudiada

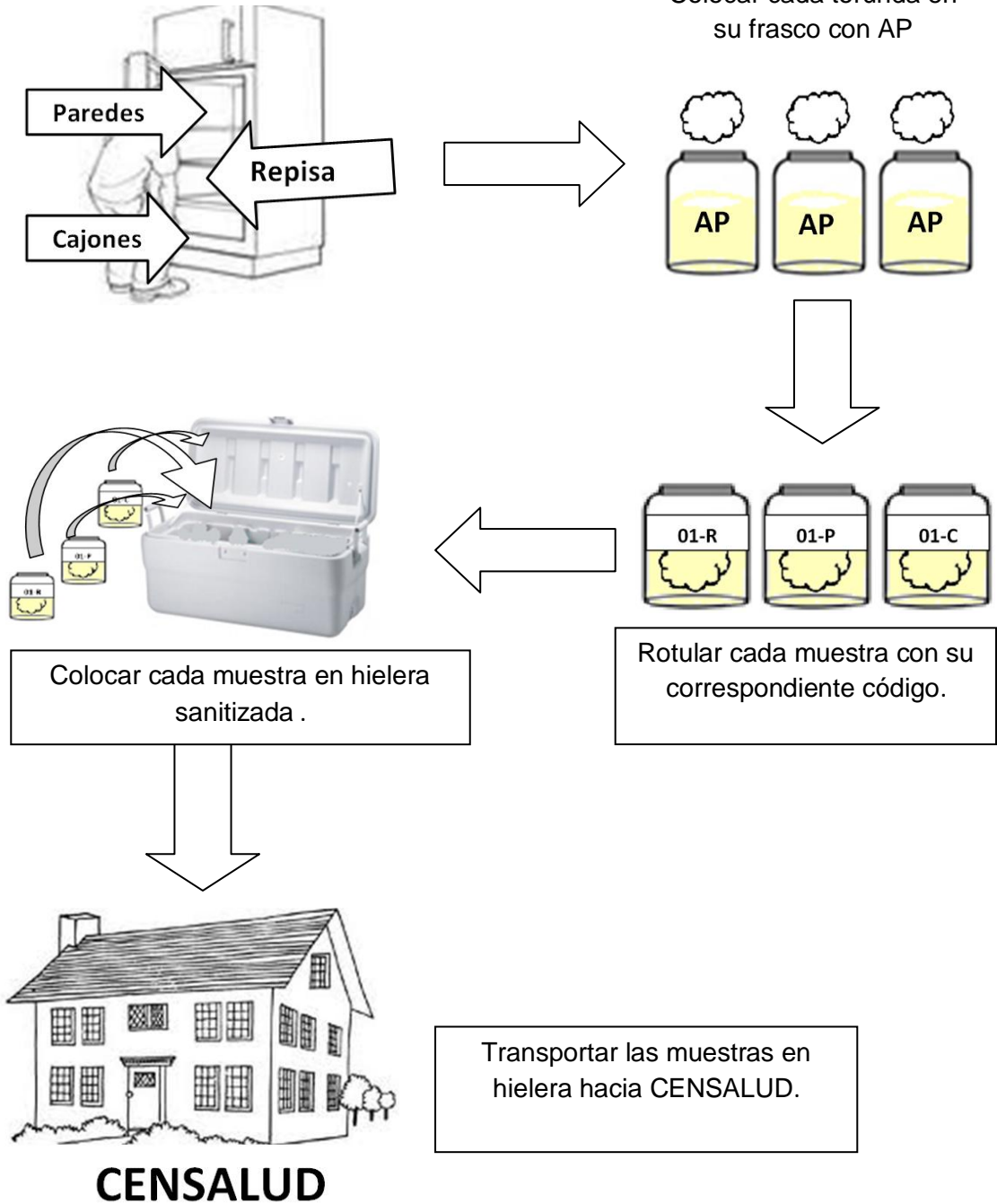


Figura N° 27. Procedimiento para el muestreo

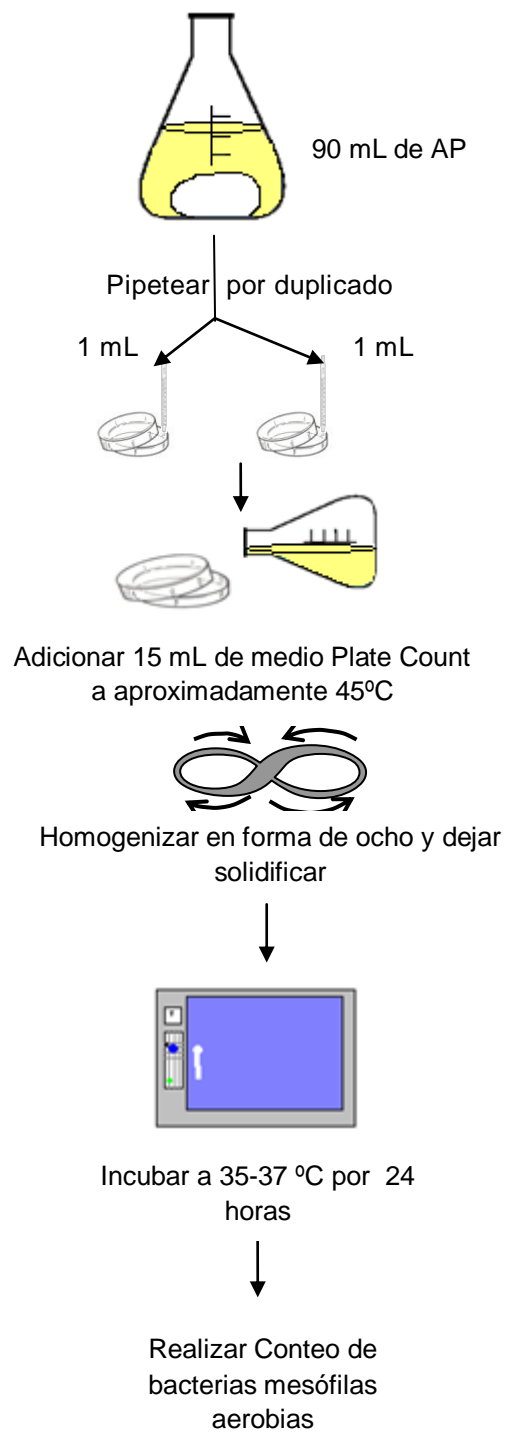


Figura N° 28. Conteo de Mesófilos aerobios

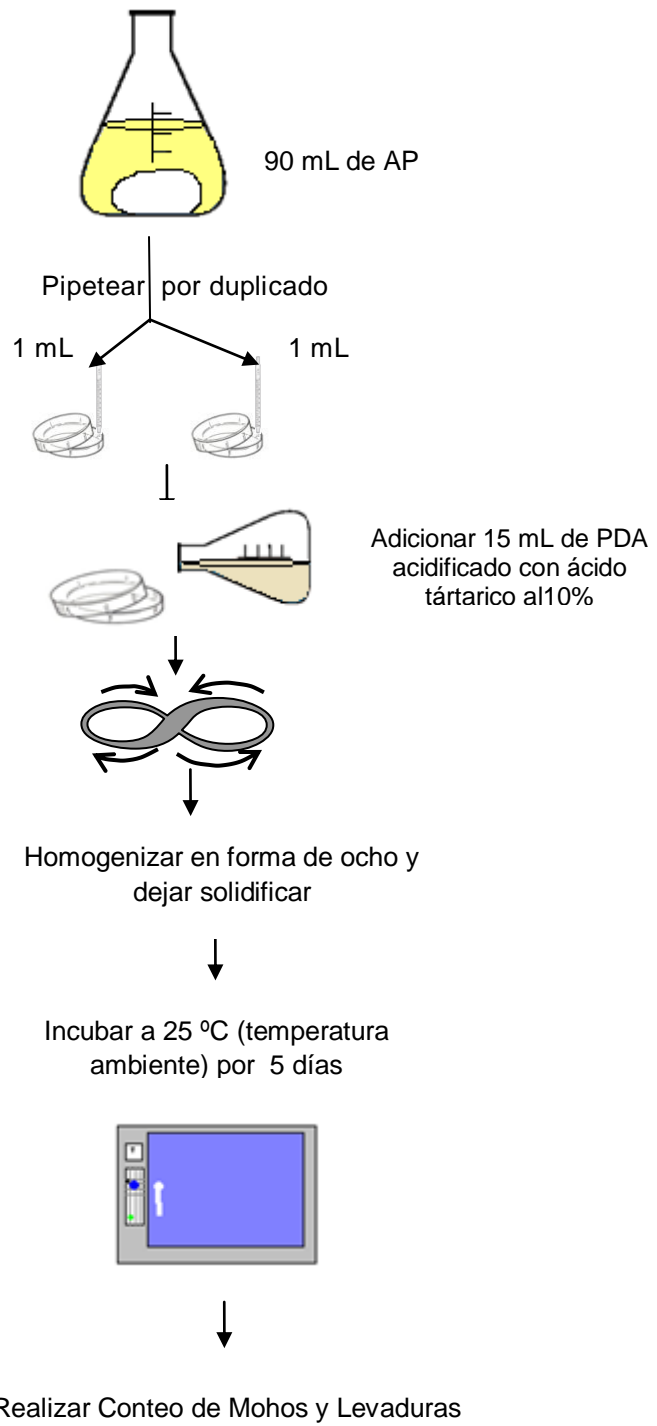


Figura N° 29 Conteo de Mohos y Levaduras

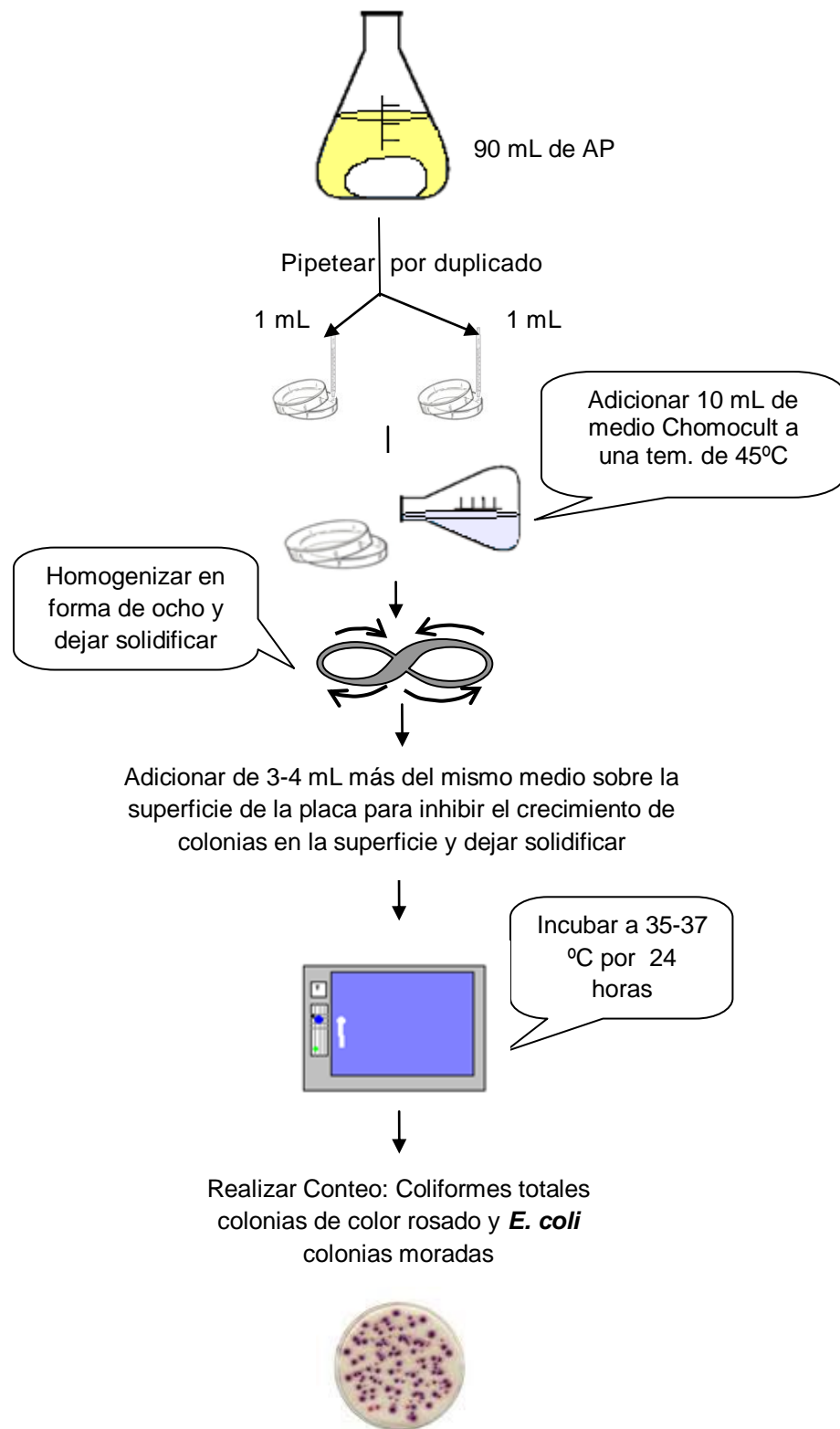


Figura N° 30. Conteo de Coliformes totales, Fecales y *E. coli*

Tomar dos o tres de las colonias sospechosas de de la placa de agar Chromocult y sembrarlas en un tubo con caldo BGLB y otro con caldo EC (con campanas de Durham).

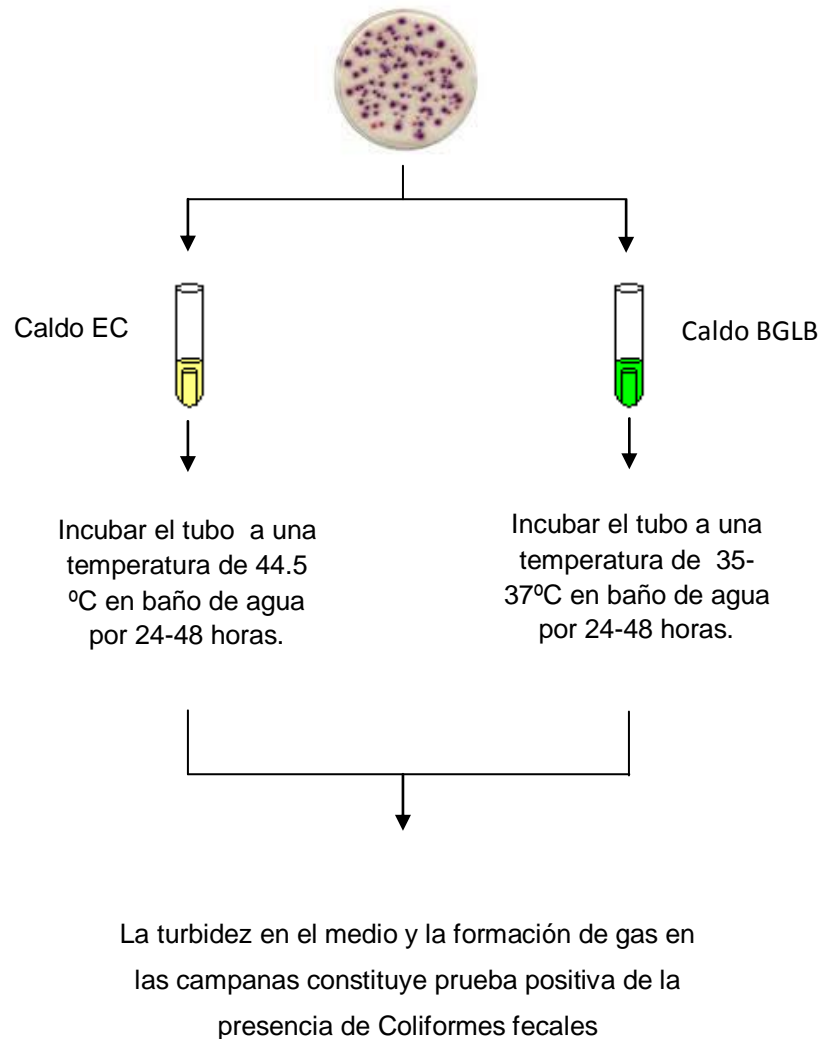
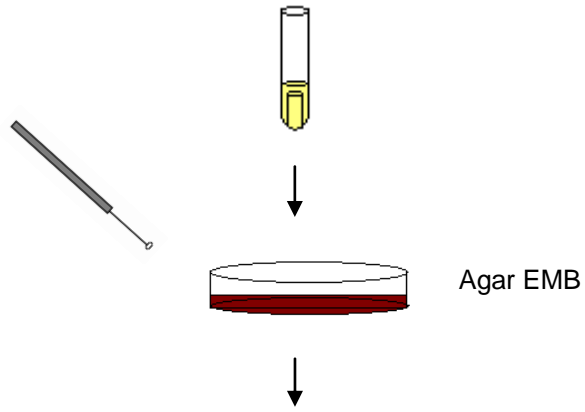


Figura Nº 31: Confirmación de la presencia de Coliformes fecales

Tubo con caldo EC positivo



Incubar por 24 ± 2 hrs a 35 ± 2 °C.

La formación de colonias purpura-rojizas con brillo metálico característico, se consideran como *E. coli*.



Figura N° 32: Determinación de la presencia de *E. coli*

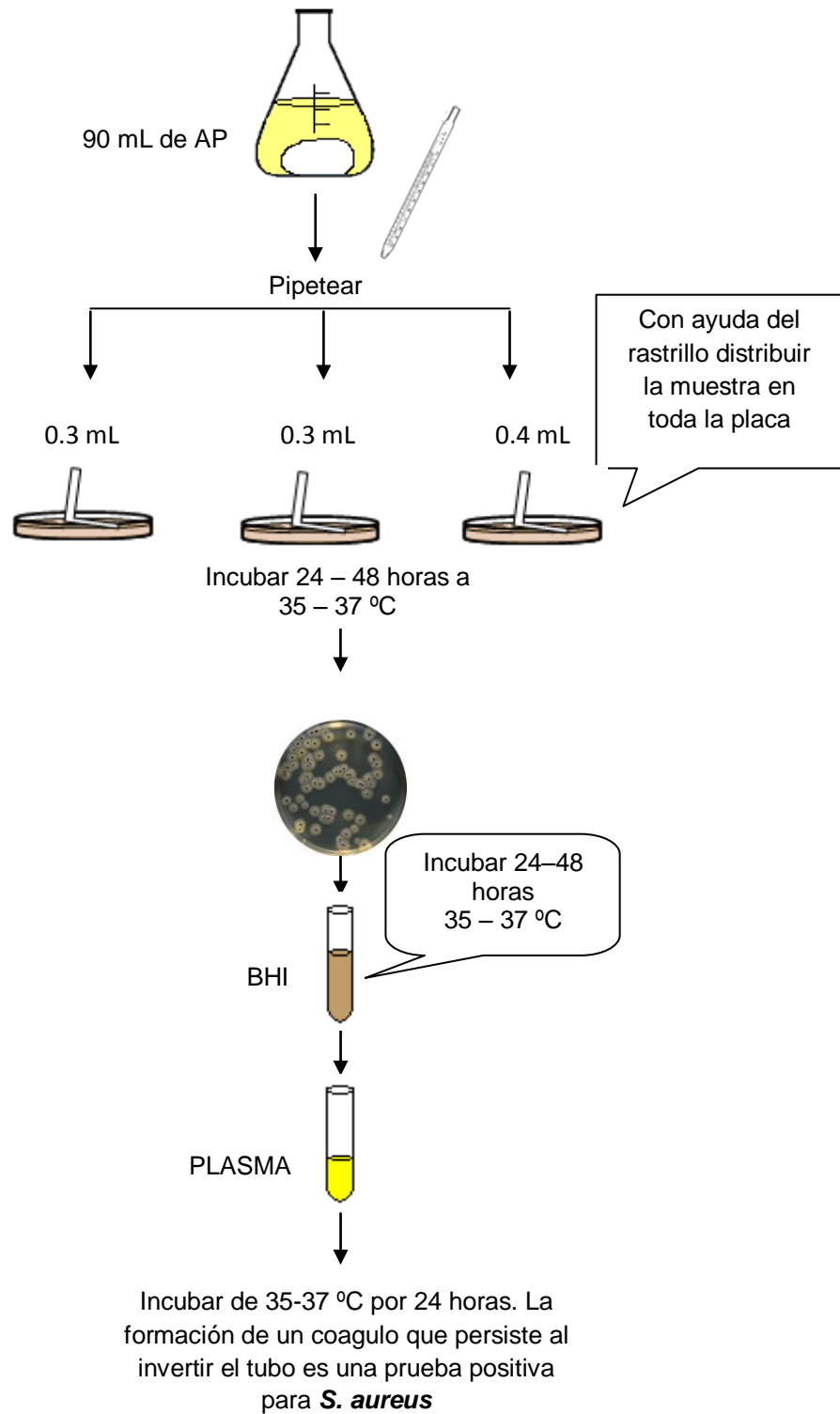


Figura N° 33. Determinación de *Staphylococcus aureus*

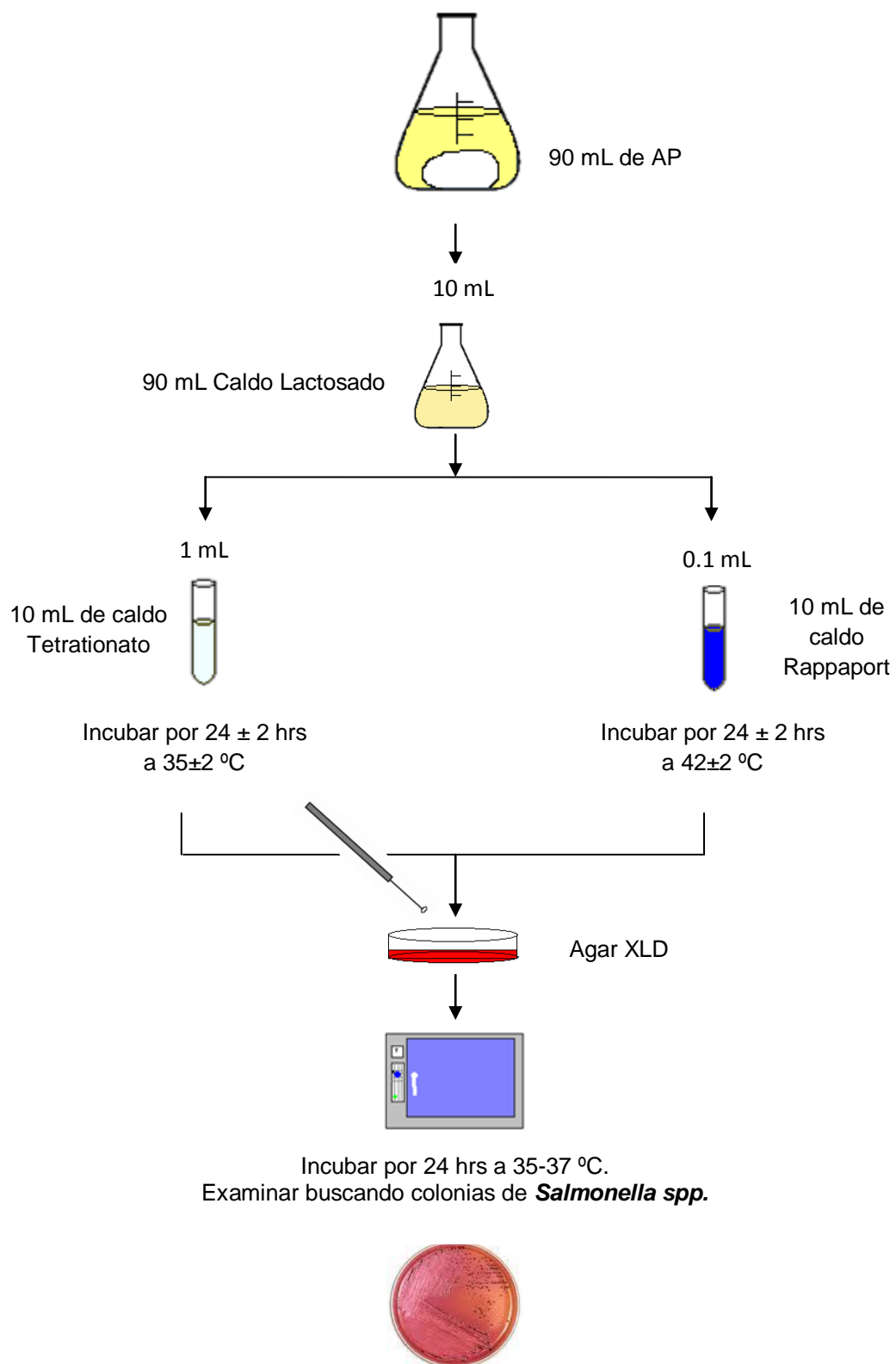


Figura N° 34. Determinación de *Salmonella spp.*

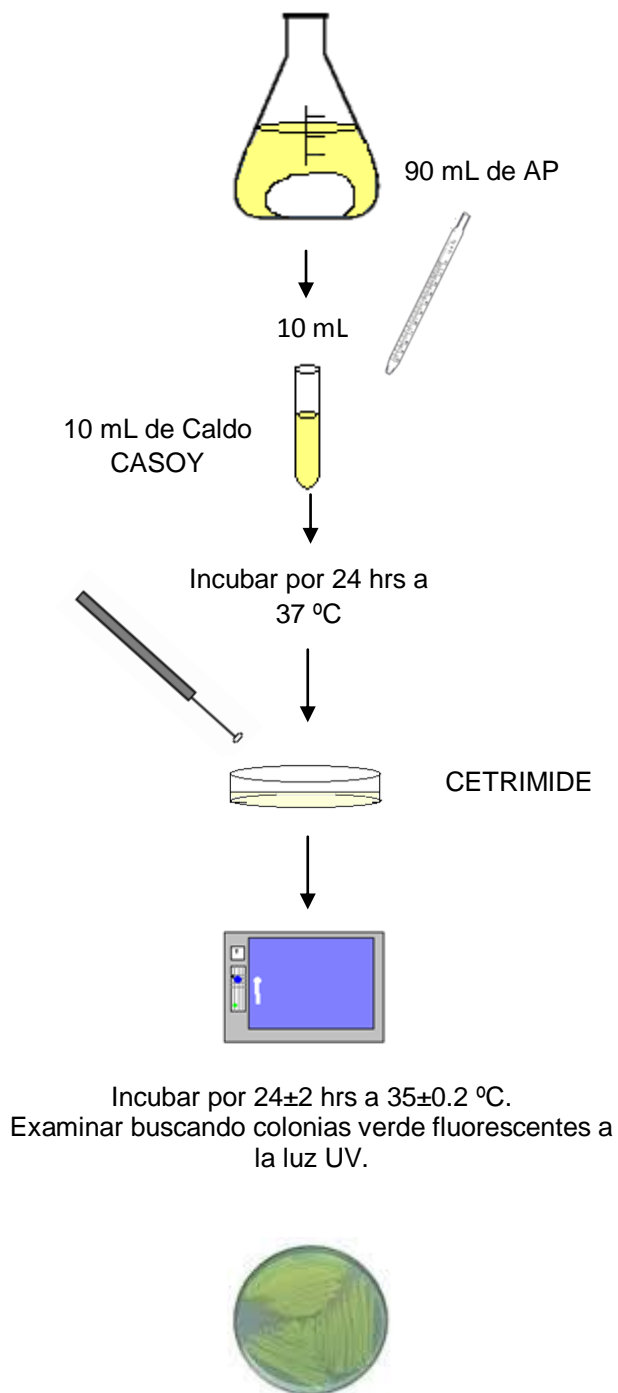


Figura N° 35. Determinación de *Pseudomonas aeruginosa*.

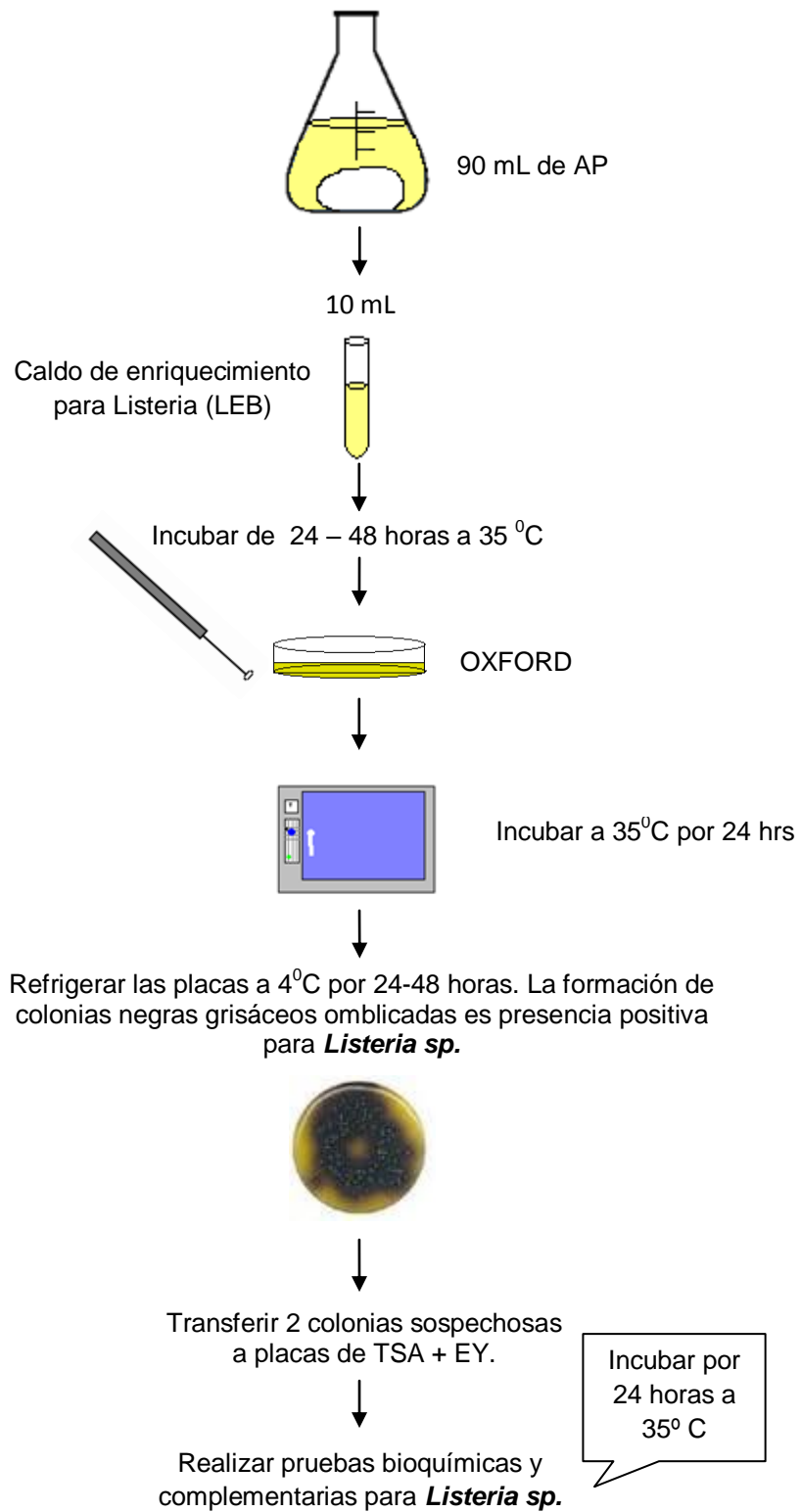


Figura N° 36. Determinación de *Listeria monocytogenes*

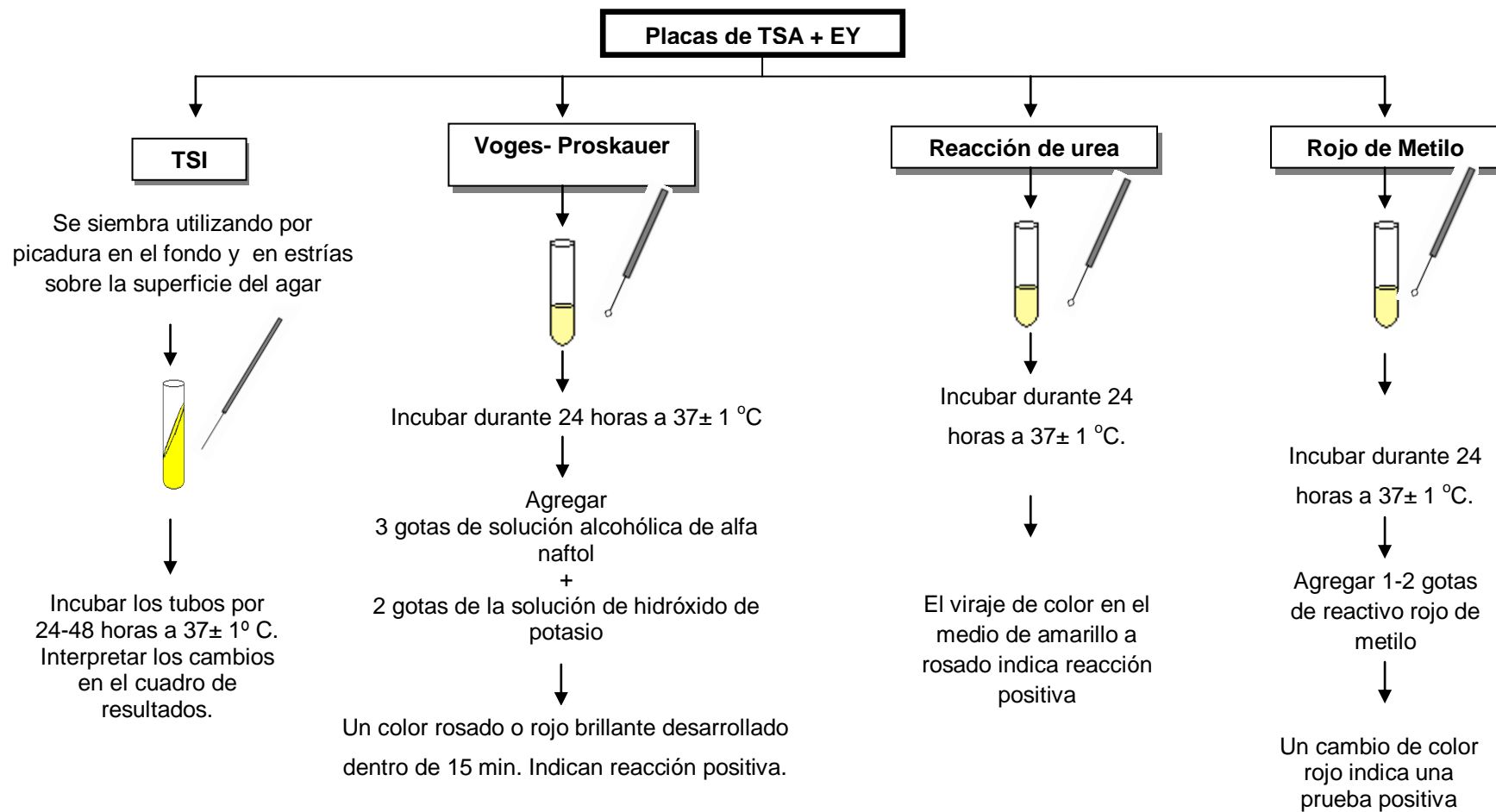


Figura N° 37. Pruebas bioquímicas para *Listeria monocytogenes*

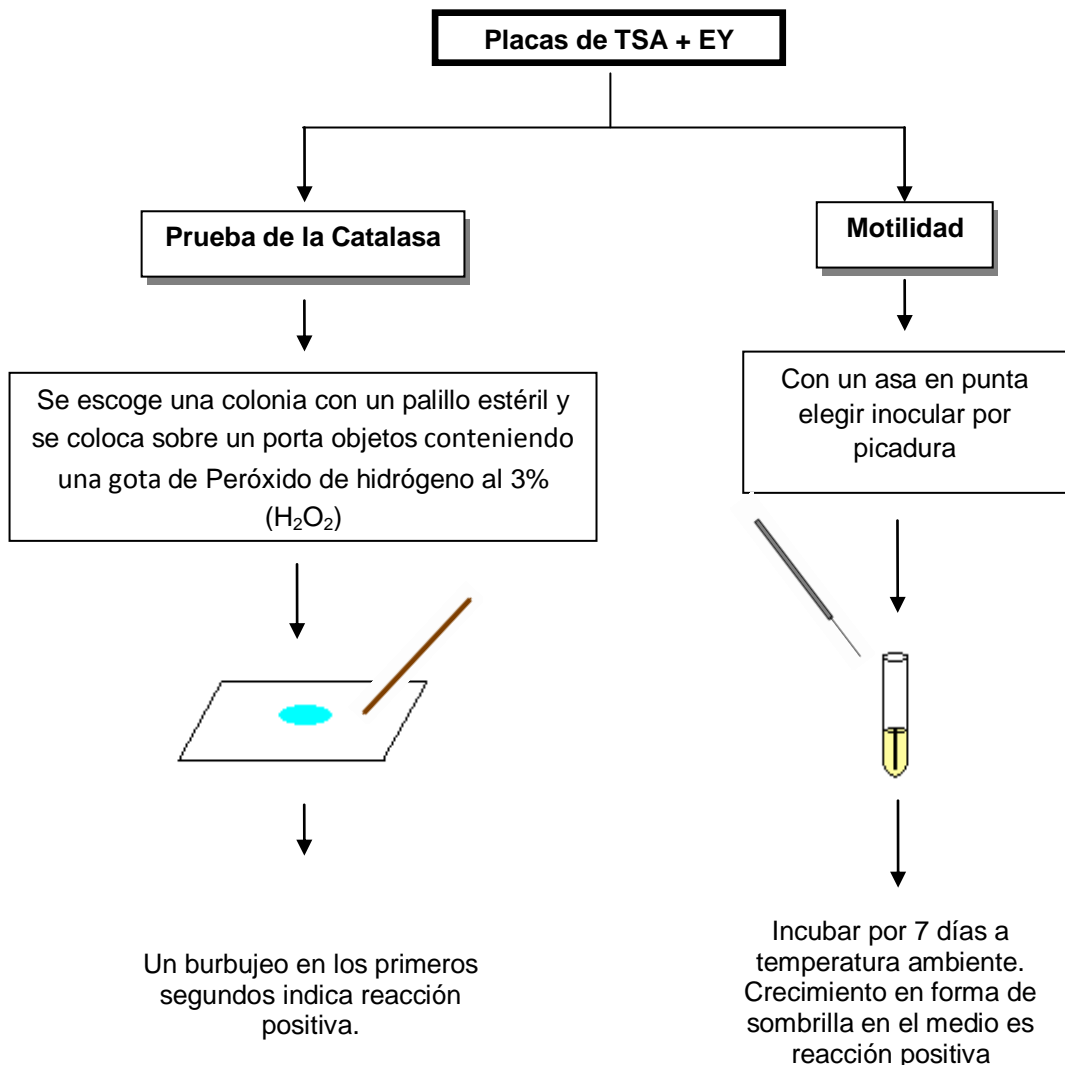


Figura Nº 38. Pruebas complementarias para *Listeria monocytogenes*

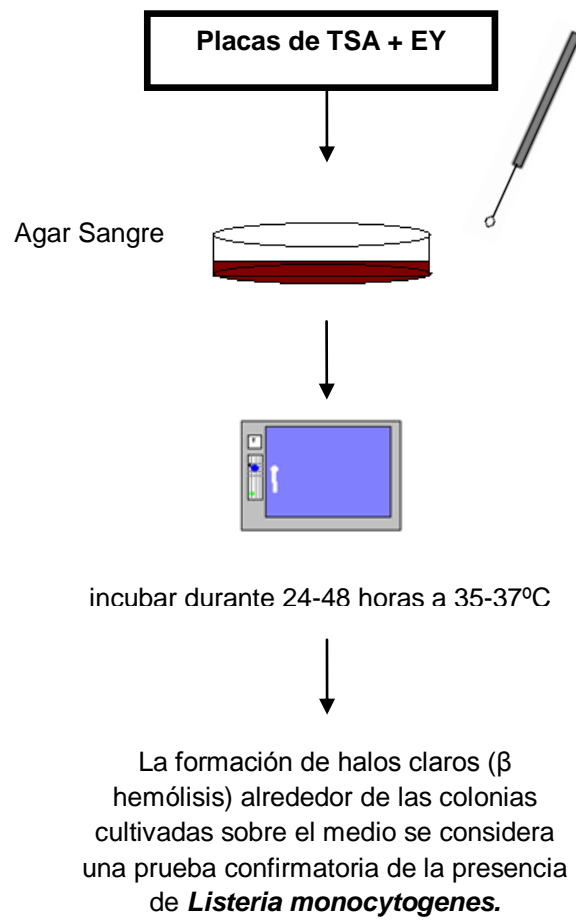


Figura N° 39: Pruebas complementarias para *Listeria monocytogenes*

ANEXO Nº 8

Tabla Nº 3. Resultados de Pruebas bioquímicas

PRUEBA O SUSTRATO	RESULTADOS		REACCION DE <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i>
	POSITIVO	NEGATIVO	
Glucosa TSI	Fondo amarillo	Fondo rojo	+
Prueba de urea	Rosado	No cambia color	-
Voges-Proskauer	Rosado –rojo	No cambia color	+
Rojo de Metilo	Rojo difuso	Amarillo difuso	+
Motilidad	Formación de un crecimiento en forma de sombrilla	No formación de crecimiento	+
Catalasa	Produce burbujeo en los primeros segundos	No produce burbujeo	+

ANEXO Nº 9
HOJA DE TRABAJO

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

CUADRO DE RESULTADOS DE ANALISIS DE SUPERFICIES

CODIGO: 231106 - P

CONTEO DE MESOFILOS

DILUCION	CONTEO	PROMEDIO
1.0 mL	DNPC	DNPC
1.0 mL	DNPC	

CONTEO DE MOHOS Y LEVADURAS

DILUCION	CONTEO	RESULTADO
1.0 mL	DNPC	levaduras,

CONTEO DE COLIFORMES TOTALES FECALES Y E. COLI

DILUCION	CONTEO	RESULTADO	EMB	V
1.0 mL	DNPC	Coliformes fecales:		+
		Coliformes totales:		+
		E. coli:	+	

DETERMINACION DE *Staphylococcus aureus*

DILUCION	CONTEO	BHI	PLASMA
0.3 mL		⊕	+
0.3 mL			
0.4 mL		-	⊖
PROMEDIO			

DETERMINACION DE *Salmonella* spp.

LACTOSADO	XLD (Morfología)	HE (Morfología)	BS (Morfología)
⊕ -	Colonias amarillas y rosadas puntiformes	Colonias amarillo-verdosas y verdes.	Colonias negras y plateadas brillantes.

RESULTADO: Presencia

DETERMINACION DE *Pseudomona aeruginosa*

CASOY	Cetrimide (Morfología)	Fluorescencia
⊕ -	No hubo crecimiento	---

RESULTADO: Ausencia

DETERMINACION DE *Listeria monocytogenes*

LEB	OXFORD (Morfología)
⊕ -	No hubo crecimiento típico.

PRUEBAS BIOQUIMICAS Y COMPLEMENTARIAS

Prueba	Resultado
TSI	-
VP	-
RM	-
I	-
M	-
OXIDASA	+

Hemólisis

RESULTADO: *Aeromonas*

Observaciones:

ANEXO N° 10

CALCULO DE PORCENTAJES

CÁLCULO DE PORCENTAJES

Para el cálculo de los porcentajes que se presentaron en los resultados y discusión de los mismos, se utilizó la siguiente fórmula de tres simple:

Número total de muestras _____ 100%

Número de muestras que presentan el atributo medido _____ x

Donde:

Número total de muestras= 60, si se trata de medir el parámetro en la totalidad de muestras, sin importar su naturaleza; es decir tomando en general repisas, cajones y paredes internas.

Número total de muestras=20, cuando el atributo medido se considera para cada parte del refrigerador estudiado. Tomando por separado repisas, cajones, y paredes internas.

Entonces:

(Número de muestras que presentan el atributo medido)x100 = x

Número total de muestras

Ejemplo:

En el caso del cálculo de porcentajes correspondientes al parámetro “Orden”, correspondiente a repisas, tenemos lo siguiente:

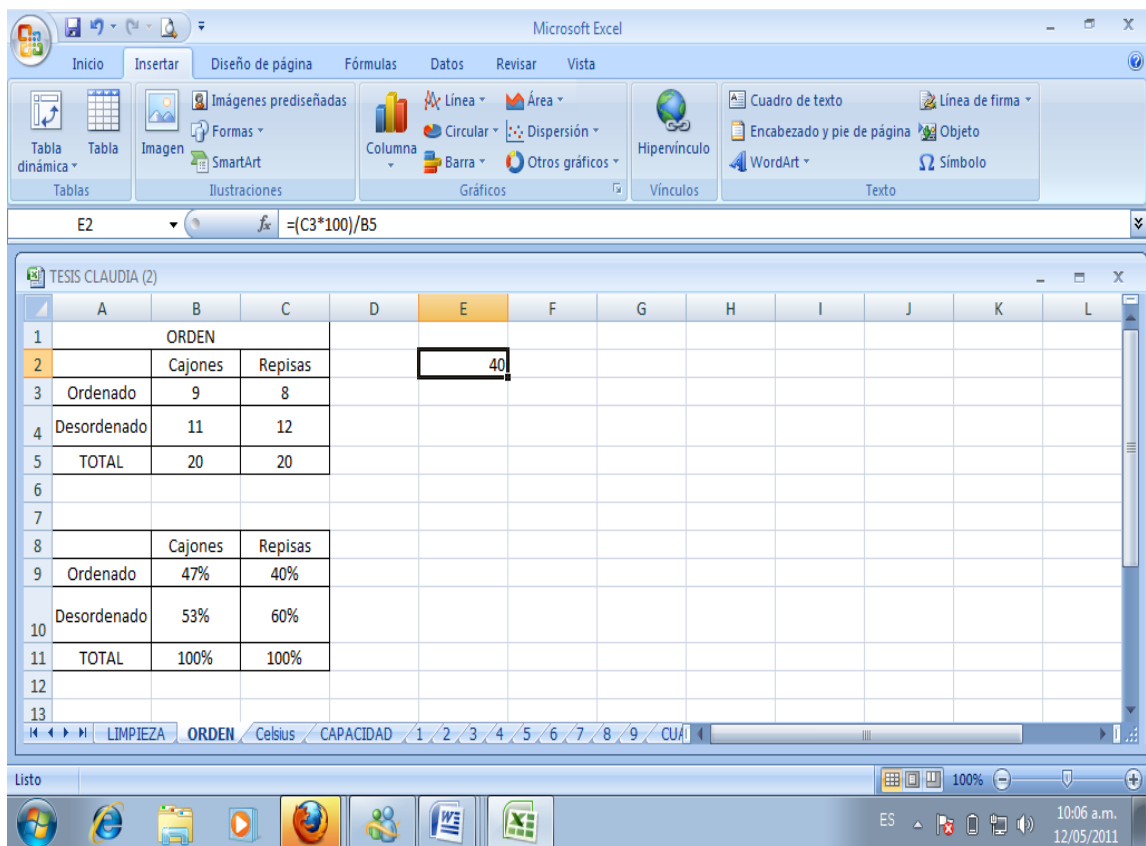


Figura N°40 Ejemplo del cálculo de porcentajes.

Lo cual ejemplifica la regla de tres, mediante las herramientas de Excel. Y así en sucesivo para los demás porcentajes calculados, que luego eran registrados en el cuadro, para su posterior grafico.

ANEXO N° 11

**LISTADO DE MEDIOS DE CULTIVO,
MATERIALES, EQUIPO Y REACTIVOS**

MEDIOS DE CULTIVO

- Agua peptonada buferada
- Caldo de Enriquecimiento para Listeria (LEB)
- Caldo CASOY
- Caldo Lactosado
- Caldo Tetrionato
- Caldo Rappaport
- Caldo urea
- Brain Heart Infusion
- Plasma
- set de pruebas bioquímicas (TSI, Voges-Proskauer, Rojo de metilo, Indol, Motilidad)
- Agar Cetrimide
- Agar XLD
- Agar OXFORD
- Agar TSA + EY
- Agar Baird Parker
- Agar Estándar método (Plate count)
- Agar Papa dextrosa
- Agar Cromocult

EQUIPO

- Autoclave
- Estufa

- Incubadora
- Refrigeradora
- Cuenta colonias
- Pipeteadores
- Asas bacteriológicas en aro
- Asas bacteriológicas en punta

REACTIVOS

- Peróxido de hidrógeno al 3%
- Ácido tartárico al 10%
- Alcohol isopropílico
- Reactivos para pruebas bioquímicas

MATERIALES

- torundas estériles
- Rastrillos
- placas esteriles
- pipetas de 10 mL
- pipetas de 1.00 MI
- porta objetos
- caja de guantes
- palillos estériles
- Papel de empaque

- Cinta indicador
- Papel aluminio
- Algodón

ANEXO Nº 12

PREPARACION DE REACTIVOS

Para reactivos de pruebas bioquímicas ⁽²²⁾

Solución alcohólica de alfa naftol

Disolver 5 gramos de yoduro de potasio (KI) en 60 mL de alcohol absoluto. Luego llevar a volumen de 100 mL con alcohol absoluto. Envasar en un frasco de plástico o vidrio bien cerrado y rotulado.

Hidróxido de potasio (KOH):

Disolver 40 gramos de hidróxido de potasio (KOH) en agua destilada y llevar a volumen de 100 mL. Envasar en un frasco de plástico bien cerrado y rotular.

Rojo de metilo:

Suspender 0.04 gramos de rojo de metilo el 60 mL de Alcohol absoluto. Ajustar el pH a un valor aproximadamente de 5.0. La solución obtenida es de color naranja. Envasar en frasco ámbar, protegido de la luz y rotular.

ANEXO N° 13

**TRIPTICO DE SANEAMIENTO Y LIMPIEZA EN EL MANEJO Y
ALMACENAMIENTO DE ALIMENTOS EN REFRIGERADORES**

Solo abra las puertas del refrigerador o congelador cuando sea necesario para guardar o sacar el alimento ya que esto incrementa la temperatura del aire en la unidad.

No coloque excesiva cantidad de alimentos en el refrigerador. El aire frío debe circular libremente para mantenerlos en buen estado.

No guarde alimentos calientes directamente en el refrigerador, enfríelos previamente. Para que los alimentos que usted coloca en la heladera o congelador se enfríen rápidamente le recomendamos que los divida en pequeñas porciones y los coloque en recipientes poco profundos.

Rotule correctamente todos los alimentos que coloca en el refrigerador. El rótulo debe indicar el nombre del alimento, número de raciones, la fecha de envasado y si esta crudo, precocido o cocido.



INFORMACION IMPORTANTE

Las tablas y utensilios que se empleen para manipular alimentos crudos, deben ser diferentes a los usados para cocidos.

La descongelación de alimentos debe realizarse en refrigerador, horno de microondas o bajo el chorro de agua fría.

La aplicación de prácticas adecuadas de higiene y sanidad, en el proceso de manipulación y almacenamiento de alimentos, reduce significativamente el riesgo de intoxicaciones alimentarias originadas por consumo de productos de origen casero.



Universidad de El Salvador
Hacia la libertad por la cultura



SANEAMIENTO Y LIMPIEZA EN REFRIGERADORES DOMESTICOS



ETAPAS DE LIMPIEZA Y DESINFECCION RECOMENDADAS

OBJETIVO

Proveer a los usuarios de los refrigeradores analizados una guía sencilla y práctica para un mejor manejo y mantenimiento de este.

ETAPAS DE LIMPIEZA Y DESINFECCION RECOMENDADAS.

Preenjuague: se trata de realizar una limpieza previa con agua, para eliminar la suciedad más gruesa. Debe evitarse realizar esta operación mediante sistemas de alta presión como mangueras ó aspersores ya que pueden proyectar partículas de suciedad hacia otras zonas.

Aplicación del detergente: con ayuda de una esponja, aplicar una porción del detergente disuelto en agua, hasta generar espuma suficiente, y restregar con movimientos firmes, por todas las superficies.

Enjuague: se realizará mediante agua potable abundante, hasta retirar todos los residuos del detergente.



Aplicación del desinfectante: una vez realizados los pasos anteriores, se procede a aplicar un desinfectante, para destruir los microorganismos que no se hayan eliminado en el proceso de limpieza.

Enjuague: posteriormente se enjuagará, para evitar que los residuos de desinfectante contaminen a los alimentos.

Secado: en la medida de las posibilidades se realizará una etapa de secado, porque el agua, además de favorecer el crecimiento bacteriano, puede hacer de vehículo diseminador si hubiese quedado algún microorganismo.



Universidad de El Salvador
Facultad de Química y farmacia

El refrigerador, los alimentos y sus cuidados.

La refrigeración es uno de los métodos de conservación de alimentos más utilizados en la actualidad.

Los alimentos deben refrigerarse tan pronto como sea posible, ya que el frío impide que la mayoría de las bacterias se desarrollen y multipliquen; como también retarda las reacciones que ocurren.

Controle la temperatura de su refrigerador. Esta debe estar entre 0°C y 5°C. Este rango de temperatura reduce la velocidad de multiplicación de las bacterias.



Cubra correctamente los alimentos con cubiertas plásticas, bolsitas plásticas o contenedores de plástico o de vidrio. Tenga cuidado con estos últimos, ya que pueden romperse fácilmente. Siempre utilice recipientes cuyas tapas cierren bien.