

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Y APLICADA

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADA
EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Y APLICADA.**

**Verificación de prerequisites de limpieza y desinfección en superficies como parte
de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) de una empresa de catering en el
servicio de cocina de un hospital de la ciudad de Quito mediante el control
microbiológico de indicadores de contaminación.**

GABRIELA VARGAS VALLEJO

MARIBEL CRISTINA PEÑAFIEL SALAZAR

Directora: Lic. Elena Granda Moreno

QUITO, 2012

PARA GRADOS ACADÉMICOS DE LICENCIADOS (TERCER NIVEL)

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR

DECLARACION Y AUTORIZACIÓN

Yo, **MARIBEL CRISTINA PEÑAFIEL SALAZAR**, CI: **1714818661** autor del trabajo de graduación intitulado: “**Verificación de prerequisites de limpieza y desinfección en superficies como parte de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) de una empresa de catering en el servicio de cocina de un hospital de la ciudad de Quito mediante el control microbiológico de indicadores de contaminación**”, previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADA EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Y APLICADA** en la **Escuela de Bioanálisis**:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 13 de febrero de 2012

Maribel Cristina Peñafiel Salazar

C.I. 1714818661

PARA GRADOS ACADÉMICOS DE LICENCIADOS (TERCER NIVEL)

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR

DECLARACION Y AUTORIZACIÓN

Yo, **GABRIELA VARGAS VALLEJO**, CI: **1721347787** autor del trabajo de graduación intitulado: “**Verificación de prerequisites de limpieza y desinfección en superficies como parte de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) de una empresa de catering en el servicio de cocina de un hospital de la ciudad de Quito mediante el control microbiológico de indicadores de contaminación**”, previa a la obtención del grado académico de **LICENCIADA EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA Y APLICADA** en la **Escuela de Bioanálisis**:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través del sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Quito, 13 de febrero de 2012

Gabriela Vargas Vallejo

C.I. 1721347787

DEDICATORIA

A Dios, porque el medio el valor de la perseverancia, para mi superación constante; por ser mi guía incondicional en cada uno de mis pasos para lograr esta anhelada meta.

“Porque es el Señor el que da la sabiduría
y de El procede la ciencia y la sensatez,
con la sabiduría se edifica la casa,
con la inteligencia se consolida,
así es la ciencia, la sabiduría para tu alma,
si la adquieres tienes un porvenir y tu esperanza no será frustrada.

Arcángel Jofiel, danos estos dones y protege a los que obran
con justicia y equidad con prudencia y rectitud”.

Maribel Peñafiel S.

A Dios y la Virgen de Guadalupe por ser mi fuerza espiritual, a mis padres por ser mis mentores incondicionales y mi ejemplo de vida, a mis hermanos por su apoyo y cariño.

Gabriela Vargas V.

AGRADECIMIENTO

Mi más profundo agradecimiento a mi madre, quien ha luchado junto a mi en cada instante de mi vida dándome su apoyo y su confianza, enseñándome a ser una mujer constante, luchadora y perseverante en todas las etapas que me ha puesto la vida.

A la Lic. Elenita Granda, por su apoyo en momentos duros, tensos que permitieron determinar momentos trascendentales para la realización de la tesis.

Un especial agradecimiento al Ing. Julio Sánchez Otero, por compartir sus conocimientos adquiridos por tantos años de esfuerzo y dedicación ya que sin su ayuda nada de esto sería posible.

A todas aquellas personas que con su apoyo incondicional, entrega y paciencia, por su excelente orientación, dirección y todos aquellos consejos que nos permitieron alcanzar los objetivos de esta tesis.

En general, agradezco a quienes de alguna manera contribuyeron a facilitarme acceso a la información requerida para alcanzar los objetivos trazados.

Agradezco a una persona muy especial que ahora comparte mi vida, quien me apoya incondicionalmente.

Y a Dios, porque sin El nada de esto hubiera sido posible.

Maribel Peñafiel S.

A mis padres por ayudarme a formarme profesionalmente y por su amor incondicional.

A la Licenciada Elena Granda y al Ingeniero Julio Sánchez por sus enseñanzas y guías, a mis amigos por su soporte y a todas las personas que permitieron llevar a cabo este estudio.

Gabriela Vargas V.

TABLA DE CONTENIDOS

Dedicatoria	I
Agradecimiento	II
Tabla de contenidos	III
Resumen	XI
Summary	XII

CAPÍTULO 1

1.1. Introducción	1
1.2. Justificación	2
1.3. Planteamiento del problema	3
1.4. Objetivos	4
1.4.1. Objetivo general	4
1.4.2. Objetivos específicos	4
1.5. Hipótesis	5

CAPÍTULO 2

2.1. Marco teórico	6
2.1.1. Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)	6
2.1.2. Sanitización, limpieza y desinfección	7
2.1.2.1. Limpieza	7
2.1.2.2. Desinfección	9
2.1.2.3. Limpieza y desinfección de equipos y utensilios	9
2.1.2.4. Suministros de agua potable	10
2.1.3. Manipuladores de alimentos	11
2.1.3.1 Importancia del manipulador de alimentos.	11
2.1.3.2. Capacitación del personal	11
2.1.3.3. Estado de salud	11
2.1.3.4. Higiene y medidas de protección del personal	12
2.1.4. Biofilms	12

2.1.4.1. Eliminación de los biofilms	13
2.1.5. ETA	13
2.1.6. Contaminación cruzada	14
2.1.6.1. Tipos de contaminación cruzada	15
2.1.7. Microorganismos indicadores	15
2.1.7.1. Condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos en las superficies	16
2.1.7.1.1. Nutrientes	16
2.1.7.1.2. Oxígeno	16
2.1.7.1.3. Temperatura	16
2.1.7.1.4. pH	17
2.1.7.2. Aerobios mesófilos	18
2.1.7.3. Mohos y levaduras	18
2.1.7.4. Coliformes totales	19
2.1.7.5. <i>Escherichia coli</i>	20
2.1.8. Placas Petrifilm™	20
2.1.8.1. Empleo de las Placas Petrifilm™ en la industria de alimentos.	21
2.1.8.2. Placas Petrifilm para Recuento de Aerobios Mesófilos (Aerobic Count AC).	21
2.1.8.3. Placas Petrifilm para Recuento de <i>E. coli</i> y Coliformes Totales.	21
2.1.8.4. Placas Petrifilm para Recuento de Mohos y Levaduras.	22

CAPÍTULO 3

3.1. Materiales y metodología	23
3.1.1. Localización de procesamiento de muestras	23
3.1.2. Localización del sitio de muestreo	23
3.1.3. Codificación de las superficies	24
3.1.4. Número de muestras	24
3.1.5. Muestreo	24
3.1.6. Tiempo de toma muestras.	25
3.1.7. Momento de toma de muestra	25

3.1.8. Materiales	25
3.1.9. Control de calidad de equipos	26
3.1.10. Pipetas	27
3.1.11. Incubadora	27
3.1.12. Esterilización	28
3.1.13. Cepas de control	28
3.1.14. Refrigeración	29
3.1.15. Protocolo de trabajo	29
3.1.15.1. Toma de las muestras	30
3.1.15.1.1. Técnica del hisopado en superficies inertes	30
3.1.15.1.2. Recolección de la muestra.	30
3.1.15.1.3. Transporte	31
3.1.16. Procesamiento de las muestras	31
3.1.16.1. Técnica de recuento de Aeróbios mesófilos, Coliformes Totales y <i>E.coli</i> , Mohos y Levaduras con placas petrifilm. 3M.	31
3.1.17. Lectura de placas Petrifilm™ 3M e interpretación de resultados.	32
3.1.17.1. Características de las colonias y recuento de los microorganismos.	32
3.1.17.1.1. Placas Petrifilm para recuento de Aerobios Mesófilos	32
3.1.17.1.2. Placas Petrifilm para recuento de <i>E.coli</i> /Coliformes Totales	33
3.1.17.1.3. Placas Petrifilm para recuento de Mohos y Levaduras	33
3.1.18. Desecho del material utilizado	33
3.1.19. Análisis estadístico	33

CAPITULO 4

4.1. Resultados y discusión	35
4.1.1. Análisis de carga microbiana en las superficies analizadas	37
4.1.2. Análisis de contaminación de Mesófilos antes del proceso de capacitación	38
4.1.2.1. Análisis de contaminación de Mesófilos después del proceso de capacitación	39
4.1.3. Análisis de contaminación con <i>E.coli</i> antes del proceso de capacitación	40

4.1.3.1. Análisis de contaminación con <i>E.coli</i> después del proceso de capacitación	41
4.1.4. Análisis de contaminación de Coliformes Totales antes del proceso de capacitación	42
4.1.4.1 Análisis de contaminación de Coliformes Totales después del proceso de capacitación	43
4.1.5. Análisis de contaminación de Mohos antes del proceso de capacitación	44
4.1.5.1. Análisis de contaminación de Mohos después del proceso de capacitación	45
4.1.6. Análisis de contaminación de Levaduras antes del proceso de capacitación	46
4.1.6.1. Análisis de contaminación de Levaduras después del proceso de capacitación	47

CAPITULO 5

5.1 Conclusiones	48
5.2 Recomendaciones	49
Bibliografía	50
Anexos	56

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Prevalencia de microorganismos en UFC en las superficies muestreadas.	37
Figura 2. Niveles de contaminación de Mesófilos antes de la capacitación	38
Figura 3. Niveles de contaminación de Aerobios Mesófilos después de la capacitación.	39
Figura 4. Niveles de contaminación de superficies con <i>E.coli</i> antes de la capacitación	40
Figura 5. Niveles de contaminación de <i>E.coli</i> después de la capacitación.	41
Figura 6. Niveles de contaminación de Coliformes Totales antes de la capacitación	42
Figura 7. Niveles de contaminación de Coliformes Totales después de la capacitación.	43
Figura 8. Niveles de contaminación de Mohos antes de la capacitación	44
Figura 9. Niveles de contaminación de Mohos después de la capacitación.	45
Figura 10. Niveles de contaminación de Levaduras antes de la capacitación	46
Figura 11. Niveles de contaminación Levaduras después de la capacitación.	47

INDICE DE IMÁGENES.

Imagen 1 y 2. Placas Petrifilm para Aerobios Mesófilos	21
Imagen 3 y 4. Placas Petrifilm para <i>E.coli</i> /Coliformes totales	22
Imagen 5 y 6. Placas Petrifilm para Mohos y levaduras	22
Imagen 7. Pipetas utilizadas para la siembra de las muestras	27
Imagen 8. Equipo utilizado para la incubación de las muestras	27
Imagen 9. Caldo Letheen con cinta de control de esterilización	28
Imágenes 10 y 11. Equipo de protección utilizado para recolección y procesamiento de muestras.	29
Imagen 12. Hisopos Quick Swab de 3M utilizados para el muestreo.	30
Imágenes 13 y 14. Cooler con refrigerantes para transportar la muestra al laboratorio.	31
Imagen 15. Controles positivos y negativos de Aerobios Mesófilos	36
Imagen 16. Controles positivos y negativos de <i>E.coli</i> /Coliformes Totales	36
Imagen 17. Controles positivos y negativos de Mohos y Levaduras	36
Imagen 18. Placas Petrifilm de <i>E.coli</i> /Coliformes Totales	79
Imagen 19. Placas Petrifilm de Aerobios Mesófilos.	79
Imagen 20. Placas Petrifilm de Mohos y levaduras	80
Imagen 21. Placas Petrifilm de <i>E.coli</i> /Coliformes Totales.	80
Imagen 22. Placas Petrifilm de Aerobios Mesófilos.	81
Imagen 23. Placas Petrifilm de Mohos y Levaduras	81

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1: Superficies muestreadas.	23
Tabla 2: Codificación de las superficies.	24
Tabla 3: Resultados de los controles	36

INDICE DE ANEXOS.

Anexo 1: Promedios de recuentos antes de la capacitación de Mesófilos, <i>E.coli</i> , Coliformes totales, Mohos y Levaduras.	56
Anexo 2: Promedios de recuentos después de la capacitación de Mesófilos, <i>E.coli</i> , Coliformes totales, Mohos y Levaduras.	57
Anexo 3: Análisis estadístico de los indicadores de contaminación antes de la capacitación con la prueba de ANOVA de un factor.	58
Anexo 4: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para Mesófilos	59
Anexo 5: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para <i>E.coli</i>	60
Anexo 6: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para Coliformes Totales	61
Anexo 7: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para Mohos	62
Anexo 8: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para Levaduras	63
Anexo 9: Análisis general de contaminación de superficies antes vs después aplicando la Prueba de T Student para muestras relacionadas.	64
Anexo10. Insertos de las placas Petrifilm	65
Anexo11. Características de las colonias de Aerobios Mesófilos	71
Anexo12. Características de las colonias de <i>E.coli</i> y Coliformes totales	72
Anexo13. Características de las colonias de Mohos y Levaduras	73
Anexo 14. Registro de temperatura de incubadora	74
Anexo 15. Registro de temperatura de la refrigeradora	75
Anexo 16. Calibración de pipetas	76
Anexo 17. Resultados obtenidos en la primera fase del muestreo	79
Anexo 18. Resultados obtenidos en la segunda fase del muestreo	80
Anexo 19. Presentación de la capacitación impartida al personal de cocina	82

RESUMEN.

El presente estudio se realizó con la finalidad de determinar indicadores de contaminación en las superficies y utensilios de las cocinas de un hospital de la ciudad de Quito, para verificar la correcta aplicación de procesos de limpieza y desinfección.

Se muestrearon superficies y utensilios (mesas, tablas de picar y cuchillos) en dos momentos del día, antes del desayuno y después del almuerzo, dos veces por semana durante dos meses. La investigación se dividió en tres etapas: la primera consistió en determinación de indicadores de contaminación en las superficies a través de hisopado, tomando en cuenta que no se han realizado monitoreos previos; en la segunda etapa se procedió a la capacitación del personal por medio de charlas y demostraciones prácticas sobre la correcta aplicación de procesos de limpieza y desinfección en las distintas superficies; por último en la tercera etapa se realizó un monitoreo microbiológico a través de hisopado después de la capacitación para comparar resultados y analizar los cambios que se han dado a partir del adiestramiento.

El muestreo se realizó mediante el hisopado de las superficies y posterior resuspensión en Caldo Lethen con tween 80, a partir del cual se realizaron las inoculaciones en las placas Petrifilm 3M para Mohos y Levaduras, Aerobios Mesófilos y Coliformes Totales / *E. coli*, conforme a las especificaciones de la casa comercial.

De acuerdo a los resultados obtenidos durante la investigación, se pudo determinar que entre las superficies analizadas existen diferencias en los niveles de contaminación de cada microorganismo. Siendo los grupos de Mohos (10×10^6 UFC/ 20cm^2), Aerobios Mesófilos (10×10^6 UFC/ 20cm^2) y Coliformes Totales (10×10^6 UFC/ 20cm^2), los que tuvieron mayor prevalencia en los lugares de estudio. A continuación se encuentran las Levaduras (90×10^4 UFC/ 20cm^2) y *E.coli* (< 10 UFC/ 20cm^2) en menor cantidad. Las superficies más contaminadas resultaron ser la Mesa fija 2, en la cual se realizan la mayor parte de actividades de preparación de alimentos y el Cuchillo 1 que es utilizado para cortar carnes crudas.

Estos resultados también mostraron que existió una disminución en los recuentos de los diferentes microorganismos analizados en todas las superficies muestreadas, después de haberse aplicado la capacitación. De esta manera se pudo comprobar que el adiestramiento que recibió el personal de la cocina del hospital fue efectivo.

SUMMARY.

This study was realized to identify indicators of contamination on surfaces and kitchen utensils from a hospital in the city of Quito, to verify the correct application of cleaning and disinfection processes.

Surfaces and utensils were sampled (tables, cutting boards and knives) at two times of day, before breakfast and after lunch, twice a week for two months. The research was divided into three stages: the first consisted of identifying indicators of contamination on surfaces by swabbing, taking into account that there have been no previous monitoring, the second stage proceeded to the training of personnel through talks and demonstrations of the proper application of cleaning and disinfection processes in the different surfaces, and finally in the third stage, a microbiological monitoring through post-training swabs to compare results and discuss the changes that have given from training.

Sampling was performed by swabbing surfaces and subsequent resuspension in Lethen broth with tween 80 , from which inoculations were made in the 3M Petrifilm Yeast and Mold, Aerobic plate counts and *E. coli*/Total Coliform according to the specifications of the manufacturer.

According to the results obtained during the investigation, it was determined that among the areas analyzed differences in pollution levels of each microorganism. As Mold groups (10×10^6 CFU / 20cm^2), Aerobic Mesophilic (10×10^6 UFC/ 20cm^2) and Total Coliforms (10×10^6 UFC/ 20cm^2), which were more prevalent in the study sites. Below are the Yeasts (90×10^4 UFC/ 20cm^2) and *E.coli* (<10 UFC/ 20cm^2) in smaller amounts. The most polluted areas proved to be the fixed Table 2, which perform most activities of food preparation and a Knife 1 that is used to cut raw meat. These results also showed that there was a decrease in the counts of different microorganisms tested on all surfaces sampled after application of training. Thus it was found that the training that received the staff of the kitchen hospital was effective.

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN.

En esta época globalizada, la demanda de alimentos preparados fuera del hogar ha determinado el incremento del número de empresas o instituciones que están encargadas de la producción y distribución de comidas a diversos grupos poblacionales, ya sea por sus distintas ocupaciones, obligaciones, estado de salud o preferencia alimenticia. Dentro de estas empresas se encuentran los servicios de catering, lo cuales se dedican a la preparación de alimentos a nivel de cafeterías, instituciones educativas, hospitales, restaurantes, etc., y están obligadas a cumplir con las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), de manera que los productos que ofrecen deben ser de calidad.

Dentro de este servicio de se utilizan diferentes utensilios para la elaboración de los alimentos, los cuales deben cumplir con prerequisites establecidos en cuanto a limpieza y desinfección para evitar la contaminación cruzada.

La limpieza y desinfección son procesos independientes y complementarios, dirigidos a evitar la proliferación y actividad de los microorganismos que pueden contaminar los alimentos y ser causa de su deterioro o de infecciones alimentarias. Estas actividades son indispensables en la industria de alimentos ya que de estas depende la inocuidad de un producto.⁽⁴⁵⁾

Los controles microbiológicos son una herramienta muy importante para comprobar que los procesos de sanitización se realicen de manera óptima garantizando la calidad de un alimento. La presencia y multiplicación de microorganismos indicadores de contaminación en las diferentes superficies de trabajo es un signo de insalubridad y de una mala aplicación de Buenas Prácticas de Manufactura.

Es necesario analizar más de dos indicadores de contaminación para poder demostrar que una superficie pueda estar contaminada. En el presente estudio, en el que se examinan superficies y utensilios de cocina de un hospital, se ha considerado analizar cinco indicadores de contaminación como son: Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales, Mohos y Levaduras los cuales nos muestran las condiciones sanitarias del manejo de alimentos y la eficiencia de los procesos de elaboración; y *E.coli*, como indicador de contaminación fecal transmitido por los manipuladores de alimentos o materia prima contaminada.

1.2. JUSTIFICACIÓN.

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) constituyen un riesgo significativo para la salud de la población a nivel mundial ya que pueden causar daños irreversibles en el organismo, dejar secuelas o incluso ocasionar la muerte; principalmente en consumidores susceptibles como niños, ancianos, mujeres embarazadas y personas inmunocomprometidas. ^(1,12)

Los microorganismos indicadores de contaminación, permiten verificar la posible presencia de microorganismos patógenos, la correcta aplicación de procesos de limpieza y desinfección en superficies y utensilios utilizados durante la elaboración de los alimentos en todos los locales que se dediquen a esta actividad incluyendo las empresas de catering. Los procesos de limpieza y desinfección son mecanismos que ayudan a reducir o a eliminar la carga bacteriana, por lo tanto su correcta aplicación constituye un sistema preventivo que disminuye posibles riesgos que puedan afectar la inocuidad del producto alimenticio y consecuentemente, el bienestar del consumidor final. ⁽³¹⁾

Monitoreos microbiológicos realizados en una empresa de catering por un período de 5 años, demostraron la presencia de patógenos tales como: *S.aureus* productor de enterotoxina A, *Salmonella spp* y *Clostridium botulinum*, siendo importante realizar análisis de microorganismos en superficies y en alimentos elaborados por este tipo de empresas, constituyéndose la determinación de microorganismos indicadores en un mecanismo que podría alertar la posible presencia de patógenos potenciales. ⁽⁵³⁾

Con esta investigación se pretende realizar un primer historial de monitoreo de indicadores de contaminación dentro de la empresa, que va a servir de guía para posteriores análisis que evalúen las condiciones higiénico sanitarias de las superficies inertes que entran en contacto con los alimentos. Además se pretende concienciar a las personas encargadas del aseo así como a los manipuladores de alimentos para que apliquen de manera correcta procesos de limpieza y desinfección, a fin de evitar consecuencias perjudiciales, garantizando la calidad del alimento y por lo tanto la salud de los pacientes. De esta manera se podrá realizar un control de calidad que garantice el cumplimiento de las normas de buenas prácticas de manufactura (BPM), así como cumplir con las normas de calidad ISO 22000 que son parte de los procedimientos de los establecimientos dedicados a la elaboración de productos alimenticios.

1.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA: Análisis de la contaminación

La contaminación bacteriana de los alimentos es la principal causa de problemas de salud en relación con el consumo de alimentos. En el Ecuador no se aplican sistemas de monitoreo microbiológico de las superficies donde se elaboran productos alimenticios de varios establecimientos y empresas, por lo que es necesario realizar procedimientos que identifiquen las posibles fuentes de contaminación y establecer un control para evitar cualquier riesgo que pueda afectar las propiedades del alimento.

Las superficies en donde se procesan alimentos en la mayoría de los casos al no ser totalmente planas, pueden alojar en sus ranuras restos orgánicos que constituyen una fuente de nutrientes que pueden dar lugar al desarrollo de gran cantidad de microorganismos, además en ellas se puede dar lugar a la formación de agregados microbianos que pueden contaminar fácilmente al alimento. Este tipo de contaminación cruzada indirecta que se produce con una superficie contaminada es la más frecuente y también la más difícil de controlar, por lo tanto un paso crítico para evitarla radica en la aplicación de procesos de limpieza y desinfección. ^(1, 10,42)

Frente a lo mencionado planteamos el análisis de microorganismos indicadores en superficies y pretendemos resolver la siguiente interrogante: ¿Los procesos de limpieza y desinfección de los utensilios e insumos utilizados en la cocina del hospital garantizan la inocuidad microbiológica de los alimentos allí preparados, evitando posibles ETA de pacientes hospitalizados quienes son los consumidores de estos alimentos?

1.4. OBJETIVOS.

1.4.1 OBJETIVO GENERAL:

Verificar la adecuada aplicación de procesos de limpieza y desinfección en superficies como parte de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) que maneja una empresa de catering en la cocina de un hospital de la ciudad de Quito, mediante controles microbiológicos de indicadores de contaminación.

1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1.4.2.1 Establecer la presencia de Aerobios Mesófilos por superficie muestreada.
- 1.4.2.2 Establecer la presencia de Coliformes Totales y *E. coli* en las superficies muestreadas.
- 1.4.2.3 Establecer la presencia de Mohos y Levaduras en las superficies muestreadas.
- 1.4.2.4 Capacitar al personal de la empresa para el mejoramiento de procesos de sanitización, una vez halladas las fallas en el proceso.
- 1.4.2.5 Evaluar la efectividad de la capacitación luego de haberla impartido al personal mediante repetición de los recuentos de los microorganismos indicadores.

1.5 HIPÓTESIS.

La capacitación del personal de la empresa de catering en los procesos de limpieza y desinfección disminuye el riesgo de contaminación microbiana de los alimentos.

CAPÍTULO 2

2.1. Marco teórico

2.1.1. Buenas Prácticas de Manufactura (BPM)

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) se implementaron por primera vez en el año de 1969 en los Estados Unidos y posteriormente fueron recomendadas por el Codex Alimentarius (Código sobre alimentos), así como también han sido contempladas en el Reglamento Técnico del Mercosur (Mercado Común del Sur). ^(2, 14,38)

En la actualidad constituyen una herramienta esencial que asegura que las operaciones de una industria alimentaria, se realicen higiénicamente desde la llegada de la materia prima hasta obtener un producto terminado seguro para el consumo humano. Las BPM son un prerrequisito junto con los Procedimientos Operativos Estándar de Saneamiento (SSOPs) para la implementación del Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control (HACCP), así como conforman el punto de partida para aplicar las normas ISO o de Gestión Total de Calidad (TQM). ^(38, 41,47)

Las BPM pueden aplicarse en todo tipo de establecimiento en el que se realice actividades de: elaboración, faena, fraccionamiento, almacenamiento, transporte de alimentos elaborados o industrializados.

Las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) son un conjunto de principios y recomendaciones técnicas que se aplican en el procesamiento de alimentos para garantizar su inocuidad y calidad. Su correcta aplicación asegura que las condiciones de manipulación y elaboración protejan a los alimentos del contacto con peligros físicos, químicos y principalmente biológicos, estando entre estos últimos los agentes patógenos. A lo largo de toda la cadena alimentaria, las buenas prácticas promueven el cuidado del ambiente durante la elaboración de alimentos, el estado de los equipos, el "know-how" involucrado y la manera de proceder de los manipuladores. ^(2, 14, 38, 41,47)

Para cumplir con lo consignado en las BPM, y poder garantizar un producto que no haga daño al consumidor (inocuo) es necesario tener en cuenta una serie de incumbencias técnicas en cuanto a la infraestructura y a los programas prerrequisito que son las actividades de rutina, y condiciones necesarias para garantizar que el proceso productivo se desarrolle en condiciones higiénicas y métodos óptimos.

2.1.2. Sanitización, limpieza y desinfección

Como parte de las normas de BPM se incluyen planes de sanitización, los cuales tienen como objeto el control del desarrollo de microorganismos viables en la totalidad de las instalaciones (equipos, superficies y utensilios), mediante métodos físicos y químicos. A partir de este principio se eligen procesos de limpieza y desinfección que en conjunto evitan la acumulación de residuos orgánicos, la formación de agregados microbianos, prolongan la vida útil de utensilios y equipos, producen la inactivación o destrucción de microorganismos que puedan alterar las cualidades del producto. ^(26,28)

En el plan de saneamiento se debe indicar claramente los métodos o procedimientos que se van a aplicar, las superficies, los equipos y los utensilios que se van a limpiar asignando responsables, los productos que se deben emplear (detergentes y desinfectantes), la frecuencia en que se realizarán las tareas u operaciones y las medidas de vigilancia que se van a aplicar. ⁽²⁸⁾

Factores que actúan en el proceso de limpieza y desinfección:

- Selección y concentración de los productos a utilizar: se deben tener en cuenta el tipo de suciedad, la calidad del agua que se va a utilizar y la composición de los agentes de limpieza y desinfección.
- Temperatura: es un factor que influye en la acción de los detergentes.
- Tiempo de contacto: Las reacciones químicas de limpieza y desinfección no son nunca instantáneas y debe respetarse un tiempo mínimo de acción.
- Fuerza mecánica: Permite la acción de la solución detergente, el arranque de la suciedad muy adherida.

2.1.2.1. Limpieza

La limpieza consiste en la remoción de residuos de alimentos, suciedad, polvo, materia orgánica, que pueden ser por los microorganismos, o que pueden causar fallas en los equipos y utensilios.

La limpieza se efectúa mediante la aplicación de métodos físicos y químicos, en forma separada o en combinación. Entre los métodos físicos están: fregar, restregar, el uso de vapor, de corrientes turbulentas, de aspiradoras o de otros métodos que no demandan agua; los métodos químicos incluyen el uso de detergentes, álcalis o ácidos. ^(28, 45,55)

El ciclo de limpieza en una industria de alimentos consta de las siguientes etapas:

- Recuperación de los residuos: se elimina restos orgánicos e inorgánicos por efecto mecánico (raspado, drenaje y eliminación por arrastre de agua o aire comprimido)
- Pre enjuague con agua: Inmediatamente después de la recuperación de los residuos se debe proceder al enjuague con agua, con el objeto de eliminar las partículas sueltas. Los residuos grasos, se eliminan de manera más fácil si el agua de enjuague se encuentra caliente.
- Lavado con detergente: La aplicación del detergente con el agua elimina las capas de suciedad cortando la grasa, arrastrando la mugre visible y haciendo desaparecer los microorganismos. Para obtener resultados satisfactorios con una determinada solución de detergente es necesario controlar la concentración y la cantidad de la solución. Los detergentes deben tener una buena capacidad humectante, acción emulsionante de las grasas, fuerza para eliminar la suciedad de las superficies y capacidad para mantener los residuos en suspensión. De igual manera deben tener buenas propiedades de enjuague para eliminar fácilmente los residuos de suciedad y los restos del detergente. El detergente debe ser adecuado para el tipo de suciedad que se produce, compatible con otros materiales, incluidos los desinfectantes empleados, y no ser corrosivo. ^(45,55)
- Enjuague con agua limpia: para eliminar la suciedad suspendida y los residuos de detergente: junto con el detergente, se eliminan, por arrastre, el polvo, la grasa y los microorganismos.
- Desinfección por agentes físicos y/o químicos

2.1.2.2. Desinfección

La desinfección es un proceso posterior a la limpieza, que tiene como finalidad controlar la población bacteriana existente y eliminar la posibilidad de desarrollo de biofilms formados por la acumulación de microorganismos en utensilios, superficies y equipos.

Los desinfectantes deben seleccionarse considerando los microorganismos que se desea eliminar, el tipo de producto que se elabora y el material de las superficies que entran en contacto con el producto. La selección depende también del tipo de agua disponible y el método de limpieza empleado. ^(33,52)

Los utensilios y equipos se deben limpiar y desinfectar antes de su uso y después de cada interrupción del trabajo. Los equipos limpios y desinfectados deben protegerse de la recontaminación y cuando no van a ser usados almacenarse en lugar protegido o deben estar sumergidos en una solución desinfectante.

Todos los productos que se usen deben estar previamente aprobados por las autoridades sanitarias y el departamento de control de calidad de la empresa. Además se deberán almacenar adecuadamente, fuera de las áreas de procesamiento de alimentos, debidamente identificados y utilizarse de acuerdo con las instrucciones del fabricante (dosificación y preparación). ⁽⁵²⁾

Para comprobar la eficacia de los procesos de limpieza y desinfección aplicados existen diferentes métodos:

- Observación visual
- Bioluminiscencia por ATP
- Control microbiológico

La frecuencia de los muestreos debe estar acorde con la importancia relativa dada a las superficies o equipo muestreado así como si existe alguna reglamentación específica que lo marque.

2.1.2.3. Limpieza y desinfección de equipos y utensilios

Los equipos, recipientes y utensilios que entren en contacto con los alimentos deben estar situados y diseñados de manera que sean fáciles de limpiar, desinfectar y mantener, con el fin de evitar la contaminación de los alimentos. Todos los equipos y utensilios deben ser usados únicamente para los fines que fueron diseñados, estos deben

ser de un material que no transmita sustancias tóxicas, olores ni sabores, no tienen que ser absorbentes, pero si resistentes a la corrosión y a las repetidas operaciones de limpieza y desinfección. Las superficies deben ser lisas y exentas de hoyos y grietas. Los materiales porosos no son aconsejables, ya que pueden constituir un foco de contaminación (todo tipo de maderas). Como alternativa, existen materiales plásticos muy resistentes que además permiten aplicar la regla “para cada uso, un utensilio de diferente color”. ^(11, 33, 43,57)

La limpieza y desinfección de los utensilios, partes de equipos y vajilla se puede hacer en forma manual o automatizada (lavavajilla).

Las superficies en contacto con alimentos (mesadas, superficies de equipos, etc.) se deben limpiar y desinfectar a intervalos continuos y regulares y cada vez que se cambie de tarea para evitar la formación de capas de microorganismos (biofilms), las que pueden ser extremadamente difíciles de remover.

Los equipos fijos para la preparación de alimentos vienen con instrucciones del fabricante para su desarme y limpieza, las cuales deben ser respetados. Estos equipos se deben desarmar para limpiarlos y desinfectarlos antes (si no son de uso continuo) y después de cada uso. Como los equipos difieren en el modo de uso se deben escribir procedimientos que especifiquen los productos de limpieza y desinfección y los métodos para todas las áreas del servicio de comida. Se debe confeccionar un horario que indique qué equipos se deben limpiar, quién es el responsable y la frecuencia de limpieza y desinfección. ^(33,57)

Aunque los refrigeradores retardan la multiplicación de los microorganismos, pueden convertirse en el hábitat de ciertas bacterias y hongos, si no son limpiados y desinfectados adecuadamente. ^(11, 43)

2.1.2.4. Suministro de agua potable

El establecimiento debe contar con agua potable suficiente en cantidad y presión, proveniente de la red pública; y con un sistema de distribución que garantice la calidad higiénica para cubrir las demandas tanto de los servicios sanitarios, de las labores de limpieza y desinfección, como de la elaboración de los alimentos. ^(33,57)

2.1.3. Manipuladores de alimentos

“Son todas aquellas personas que, por su actividad laboral, tienen contacto directo con los alimentos durante la preparación, fabricación, transformación, elaboración, envasado, almacenamiento, transporte, distribución, venta, suministro y servicio. Además se especifica la categoría de manipuladores de mayor riesgo para aquellos en cuyas prácticas de manipulación pueden ser determinantes en relación con la seguridad y la salubridad de los alimentos. Entre otros trabajadores se incluyen a los que trabajan en la elaboración de comidas preparadas para venta, suministro y servicio directo a los consumidores o colectividades.” ⁽⁹⁾

2.1.3.1. Importancia del manipulador de alimentos.

El manipulador, es un especialista en determinados procesos de la cadena alimentaria y está obligado a conocer cuáles son los peligros que puede acarrear una negligencia en su trabajo, la repercusión hacia la población, así como los daños irreparables hacia la empresa en la que se desarrolla.

Los manipuladores son quienes garantizan la seguridad y salubridad de los productos alimenticios. ⁽¹³⁾

2.1.3.2. Capacitación del personal

Para este tipo de profesionales es de suma importancia la formación en higiene alimentaria. Se recomienda que la empresa tenga un plan de capacitación continua para todas las personas que manipulen alimentos en base a las normas de Buenas Prácticas de Manufactura. Este entrenamiento es responsabilidad de la empresa y debe ser adecuado y continuo. ^(13,37)

2.1.3.3. Estado de salud

El personal manipulador de alimentos debe someterse a un reconocimiento médico antes de desempeñar esta función. Si se sufre cualquier enfermedad susceptible de contaminar o ser transmitida a través de los alimentos (heridas infectadas, infecciones de la piel, diarrea o trastornos gastrointestinales, entre otros), debe informarse a los responsables para valorar el riesgo y establecer las normas a tomar. ^(43,57)

2.1.3.4. Higiene y medidas de protección del personal

Los manipuladores de alimentos, deben cumplir las normas de higiene en cuanto a actitudes, hábitos y comportamiento. Debe poner especial cuidado con la higiene de manos, uñas, nariz, boca, pelo y piel, ya que estas zonas transmiten fácilmente microorganismos.

Es importante lavarse las manos de manera frecuente y minuciosa con un agente de limpieza autorizado, con agua potable y con cepillo para limpiarse las uñas. Esta actividad debe realizarse antes de iniciar el trabajo, después de haber hecho uso de los inodoros, de haber manipulado material contaminado y todas las veces que las manos se vuelvan un factor contaminante. Debe haber indicadores que recuerden lavarse las manos y un control que garantice su cumplimiento. El uso de guantes no exime al personal de la obligación de lavarse las manos. Es obligatorio realizar la desinfección de las manos cuando los riesgos asociados con la etapa del proceso así lo justifique. ^(37,43)

El personal de la empresa debe contar con uniformes adecuados y además contar con prendas de protección como guantes, mascarillas, gorros y delantales. La indumentaria, que será preferiblemente de color claro, debe estar permanentemente limpia y cambiarse tantas veces como sea necesario, incluso a lo largo de una misma jornada de trabajo. Será además de uso exclusivo para esta actividad y es recomendable que no disponga de bolsillos. El calzado, además de ser el adecuado y de fácil limpieza y desinfección, deberá tener suela antideslizante para evitar posibles resbalones y accidentes. ^(13, 37,43)

Debe evitarse la presencia no justificada de personas ajenas a la actividad de las cocinas y en cualquier caso estas personas deberán en todo momento respetar las normas relativas a la higiene.

Conocer y cumplir las instrucciones de trabajo establecidas por la empresa es clave para garantizar la seguridad y salubridad de los alimentos.

2.1.4. Biofilms

Son comunidades de microorganismos y polímeros extracelulares, con capacidad de colonizar y posteriormente fijarse y desarrollarse sobre superficies. Los biofilms

bacterianos pueden contaminar alimentos reduciendo su conservación o provocando toxiinfecciones. Su presencia puede ser perjudicial e indeseable puesto que en muchos casos producen contaminaciones del producto acabado.

Estos biofilms solo necesitan un entorno hidratado y una mínima presencia de nutrientes para desarrollarse. Para que su formación ocurra, en primer lugar se produce un pre-acondicionamiento de la superficie por contacto de la materia orgánica presente en el agua. En la interfase agua/superficie se deposita una capa orgánica, que cambia las propiedades químicas y físicas de la superficie y mejora las posibilidades de fijación de las bacterias. Una vez instalado comienza la síntesis de productos extracelulares creando una matriz que les conferirá mayor protección frente a los desinfectantes, antibióticos, ambientes hostiles y a la desecación. ^(16,25)

2.1.4.1. Eliminación de los biofilms

Uno de los principales problemas en la industria alimentaria es la supervivencia de microorganismos patógenos o alterantes y contaminantes, debido a una desinfección insuficiente de las superficies o de los instrumentos que están en contacto con los alimentos. En general, todos aquellos procesos que causen la dispersión en aerosol de los microbios sobre las superficies o el producto acabado deben centrar los esfuerzos en la ejecución de programas de prevención. ⁽²⁵⁾

El objetivo del control microbiano y de la eliminación de biofilms es prevenir el deterioro de los productos. Los medios más importantes para el mantenimiento de un control microbiano eficiente incluye, minimizar la carga microbiana de otras fuentes del proceso, control eficiente del crecimiento en lugares vulnerables, limpieza y desinfección adecuada de las líneas de proceso.

2.1.5. ETA

Las Enfermedades Transmitidas a través de los Alimentos (ETA) son cualquier síndrome causado por la ingestión de productos alimenticios o agua que contengan agentes etiológicos en cantidades tales, que afecten la salud del consumidor a escala individual o de grupos de población. Estas se producen en cualquiera de las etapas de la cadena alimentaria (producción, transporte, almacenamiento, elaboración, distribución y consumo de alimentos). ^(4, 12, 20, 24, 30, 44,51)

Las ETA son uno de los problemas sanitarios más comunes que causan un fuerte impacto sobre la salud de las personas y en la productividad económica. Afectan, principalmente, a países en vías de desarrollo, a la población pobre, personas con defensas bajas, niños, mujeres embarazadas y ancianos. ^(12,20, 24, 51)

Actualmente se estima que las ETA se presentan con más frecuencia, debido a la globalización, al incremento de la población, cambios de hábitos alimenticios, el aumento de la resistencia de los patógenos a los compuestos antimicrobianos y a los intercambios comerciales de productos que se realizan a nivel mundial.

Las enfermedades transmitidas por alimentos se clasifican en:

a) Infecciones: son producidas por la ingestión de alimentos que contienen microorganismos vivos perjudiciales para la salud, capaces de multiplicarse en el organismo del consumidor, como virus, bacterias y parásitos. Estos microorganismos pasan a través del estómago al intestino, se adhieren a las células que recubren las paredes intestinales y comienzan a multiplicarse. Tienen un período de incubación mucho más prolongado por lo que los síntomas pueden aparecer en varios días. ^(24,30,44)

b) Intoxicaciones: son ocasionadas por la ingestión de toxinas producidas por los microorganismos en los alimentos, o por sustancias químicas que se incorporan a ellos de modo accidental, incidental o intencional desde su producción hasta su consumo. Estas toxinas generalmente no poseen olor o sabor y son capaces de causar enfermedades después que el microorganismo se haya eliminado. Las toxinas son absorbidas en la corriente sanguínea y estas pueden invadir directamente tejidos corporales más profundos. El periodo de aparición de los síntomas generalmente es muy corto en estos casos. ^(24, 30, 44)

2.1.6 Contaminación cruzada

Contaminación cruzada se refiere a la transmisión de virus, bacterias, hongos y otras sustancias tóxicas o dañinas desde los alimentos, manipuladores, utensilios, equipos o superficies de trabajo hacia las comidas preparadas. Es una de las causas de infecciones e intoxicaciones alimentarias en servicios de comidas y producción de alimentos en

general. El contacto directo entre alimentos y una inadecuada manipulación son los dos principales riesgos de este tipo de contaminación. ^(17, 21,36)

Es importante que las superficies y utensilios utilizados para la elaboración de alimentos estén higienizados adecuadamente, ya que muchas veces estos son el principal foco de contaminación, debido a que en ellos pueden quedar alojados gran cantidad de microorganismos que van a pasar al producto durante su elaboración.

2.1.6.1. Tipos de contaminación cruzada:

a) Directa: La contaminación cruzada directa ocurre cuando un alimento contaminado entra en contacto directo con otro alimento que no lo está y le transfiere su contaminación.

Se presenta cuando se mezclan alimentos que están cocidos con alimentos crudos, en preparaciones que no requieren cocción posterior, como por ejemplo las ensaladas, postres, etc., o también al almacenar los alimentos crudos (carne, vegetales, frutas, lácteos) junto con los alimentos cocidos en el refrigerador. ^(21,36)

b) Indirecta: Es la transferencia de la contaminación de un alimento contaminado a otro alimento a través de las manos o una superficie de contacto con los alimentos como las tablas de picar, mesas, equipos y utensilios. Generalmente, la contaminación cruzada indirecta sucede cuando se manipulan alimentos crudos y luego no se lavan y desinfectan las superficies de contacto con los alimentos o las manos antes de manipular alimentos cocidos o que no requieren cocción. Este tipo de contaminación es la más frecuente y difícil de controlar. ^(21,36)

Teniendo en cuenta los principales riesgos asociados a este tipo de contaminación, es imprescindible adoptar medidas de manipulación concretas que eviten alteraciones en el alimento que va a ser consumido.

2.1.7. Microorganismos indicadores

Existen varios tipos de gérmenes capaces de descomponer los alimentos y estos se encuentran en todas partes, en el suelo, en el agua, en el aire, en las cáscaras de vegetales o frutas y en las superficies inertes. También se los puede encontrar en los

equipos utilizados en el procesamiento de los alimentos que no han sido desinfectados, en piel y ropa de personal que maneja los alimentos.

Los microorganismos indicadores son aquellos que no siempre son perjudiciales para la salud, pero su presencia en los alimentos puede señalar una mala calidad de las materias primas utilizadas, una mala higiene de las superficies, equipos o manipuladores y condiciones de conservación inadecuadas. Cuando están presentes en grandes cantidades producen deterioro en el alimento. ^(5,35,40)

2.1.7.1. Condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos en las superficies

Los microorganismos, como el resto de formas de vida, tienen una serie de necesidades para crecer y multiplicarse. Entre los factores más importantes que influyen en el desarrollo de asociaciones bacterianas, están: los nutrientes, oxígeno, temperatura y el pH. ^(15, 19, 23,29)

2.1.7.1.1 Nutrientes

Los microorganismos necesitan para su supervivencia al igual que los seres humanos una fuente de energía (carbono, azufre, fósforo, nitrógeno), sales minerales y factores de crecimiento para su desarrollo (microelementos).

2.1.7.1.2. Oxígeno

La presencia de oxígeno para el desarrollo de un microorganismo es un factor de desarrollo primordial, ya que a partir de este puede generar energía y sintetizar nuevas células. Los microorganismos aerobios necesitan para crecer la presencia de oxígeno, mientras que los anaerobios crecen en ausencia de oxígeno.

2.1.7.1.3. Temperatura

Cada microorganismo es capaz de crecer en un rango determinado de temperatura. Este rango es conocido como temperaturas cardinales y establece las temperaturas máximas, óptimas y mínimas de desarrollo en función de la velocidad de crecimiento y la temperatura de incubación.

- Temperatura máxima: es en la que el crecimiento no es posible y se hace insostenible todo proceso de bioquímico por la desnaturalización de proteínas y enzimas. Entre estas se encuentran las bacterias termófilas.
- Temperatura óptima: es cuando el microorganismo registra la máxima velocidad de crecimiento y las reacciones enzimáticas ocurren a la máxima velocidad.
- Temperatura mínima: es aquella en donde ya no se detecta crecimiento del microorganismo por sus valores bajos. La actividad metabólica es mínima y las membranas se vuelven rígidas.

El margen entre la temperatura mínima y la máxima se suele llamar margen de crecimiento, y en muchas bacterias suele comprender unos 40 grados.

Cada especie o cepa bacteriana tiene temperaturas cardinales distintas, de modo que una bacteria puede presentar una temperatura óptima superior a la temperatura máxima de otra, o inferior a la temperatura mínima de una tercera. Según el rango de temperaturas al que pueden crecer las distintas bacterias, se pueden establecer tres tipos principales:

- Psicrófilas o criófilas: crecen entre -5 a 5°C. Las llamadas psicrófilas obligadas tienen temperatura óptima a 15-18°C y las psicrófilas facultativas o psicrotolerantes (también llamadas psicrotrofas) presentan temperatura óptima entre los 20-30°C y máximas a los 35°C. Las bacterias y hongos psicrotrofos son los responsables de que los alimentos guardados en el congelador se dañen con el tiempo.
- Mesófilos: presentan temperaturas óptimas a los 20-40°C y máximas entre 30 y 40°C.
- Termófilos: presentan temperaturas óptimas a 50-75°C y máximos entre 80 y 113°C. se clasifican en dos grupos: termófilos obligados (crecen a 55 °C, pero no a 37 °C) y termófilos facultativos (crecen a 55 °C y a 37 °C).

2.1.7.1.4. pH

Los microorganismos pueden crecer en una variada gama de pH que va desde pH = 2 para los acidófilos hasta pH = 11 para alcalófilos. En general los microorganismos que

toleran pH ácidos no toleran pH alcalinos y viceversa. Independientemente del pH que pueda soportar un microorganismo, es importante conocer cuál es el pH óptimo para su crecimiento. Las bacterias crecen con mayor rapidez a pH comprendido entre 6,0 y 7,0 cerca de la neutralidad; las levaduras entre 4.5 y 6.0 y hongos filamentosos entre 3.5 y 4,0.

2.1.7.2. Aerobios Mésofilos

Son un grupo de microorganismos que incluyen todas las bacterias, capaces de desarrollarse entre 20 y 40° C, dentro de estos se encuentran la mayoría de patógenos, cuya temperatura óptima de desarrollo es la del cuerpo humano 37° C. ^(9,35)

Los Aerobios Mesófilos indican la cantidad total de bacterias presentes en una muestra, con alguna característica en común (como la temperatura a la que crecen). Cuando se aprecian recuentos altos de este tipo de microorganismos, los alimentos son considerados no aptos para el consumo a pesar de que estos microorganismos no sean considerados como patógenos y no hayan alterado de forma apreciable las características organolépticas del alimento. ^(35,39,48)

El recuento de estas bacterias refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación y las condiciones higiénicas de una superficie. Este método es uno de los indicadores microbiológicos de calidad más utilizado en la industria. Se aplica a todos los alimentos con excepción de los productos fermentados o madurados tales como quesos, ciertos tipos de embutidos, yogurt, etc. Los recuentos de Mesófilos no diferencian los tipos de bacterias que pueden estar presentes en el alimento o superficie. ^(35,48)

2.1.7.3 Mohos y Levaduras

Las Levaduras son microorganismos eucariotas cuya forma dominante de crecimiento es unicelular. Poseen un núcleo y se multiplican por reproducción sexual o asexual, por gemación o por fisión transversal.

Los Mohos son un grupo de hongos microscópicos; organismos pertenecientes al reino Fungi, que se caracterizan por tener un cuerpo formado por estructura filamentosa con

ramificaciones, que se conocen con el nombre de hifas, el conjunto de hifas constituye el micelio, carecen de clorofila, se alimentan por absorción pudiendo propagarse por esporas flageladas o no, las paredes celulares pueden ser de queratina, celulosa o manano. Crecen formando colonias en un medio selectivo a 25 °C. ^(5,35)

Los Mohos y las Levaduras se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente, pueden encontrarse como flora normal de un alimento, o como contaminantes en los equipos y utensilios sanitizados inadecuadamente. Ciertas especies pueden causar problemas cuando existe síntesis de metabolitos tóxicos (micotoxinas) capaces de soportar algunas sustancias químicas, o cuando tienen la habilidad de alterar sustratos no favorables permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas. Pueden también causar malos olores y sabores y la decoloración de las superficies de alimento. ^(34,35)

2.1.7.4. Coliformes Totales

Los Coliformes son bacterias aerobias y anaerobias facultativas, Gram negativos, bacilos no formadores de esporas que son capaces de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas a 32°C durante las primeras 48 horas de su crecimiento. ^(3, 5)

Estos microorganismos son habitantes de tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales, pero también se encuentran en el suelo, plantas, agua, etc., por lo que se distinguen dos grupos los Coliformes Totales y fecales. Al grupo de los Coliformes pertenecen varios géneros: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. ^(3, 5, 8,27)

El número de Coliformes Totales en una muestra de agua, superficies o alimentos es usado como criterio de sanitización y puede aplicarse para ^(27, 40,56):

- ✓ La detección de prácticas sanitarias deficientes en el manejo y en la fabricación de los alimentos.
- ✓ La evaluación de la calidad microbiológica de un producto, aunque su presencia no necesariamente implica un riesgo sanitario, cuando los coliformes no son de origen fecal.
- ✓ Indicar mala manipulación e higiene de las personas que procesan los alimentos.
- ✓ Evaluar la calidad sanitaria del hielo y los distintos tipos de agua utilizados en las diferentes áreas del procesamiento de alimentos.

- ✓ Indicar contaminaciones cruzadas sobre todo después de aplicación de tratamientos térmicos, ya que estos microorganismos pueden eliminarse fácilmente mediante la aplicación correcta de procesos de cocción, por lo cual su presencia en alimentos cocidos sugiere una contaminación posterior.
- ✓ Identificar fallas en los procesos de almacenamiento (temperatura inadecuada) de materias primas y productos elaborados.

2.1.7.5. *Escherichia coli*

Es una bacteria unicelular que se encuentra generalmente en los intestinos animales. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram (Gram negativo), es anaeróbico facultativo, móvil por flagelos peritricos, no forma esporas. Se caracteriza por ser termotolerante (fermenta lactosa a 44.5°C) que produce indol a partir de triptofano y produce β –glucuronidasa. ^(7,32, 54)

Dentro de los Coliformes fecales *Escherichia coli* es el más importante debido a las patologías que causa, esta es una bacteria cuyo hábitat natural es el tracto entérico del hombre y de los animales. Por esta razón, la presencia de este microorganismo en una muestra indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal. *E. coli* es el indicador clásico de la posible presencia de patógenos entéricos. Dentro del grupo de las *E. coli* existen muchos serotipos diferentes capaces de causar gastroenteritis en humanos y animales, siendo éstas especialmente serias en recién nacidos, ancianos y personas inmunocomprometidas. ^(32, 35, 39,48)

2.1.8 Placas Petrifilm TM (46, 58,59)

Son medios de cultivo compactados en una placa de plástico que permite la detección rápida y de una gran variedad de microorganismos en poco tiempo. Su conformación es de gran similitud al método tradicional del que extrae sus ventajas y elimina el inconveniente de trabajar a temperatura, posee una enorme versatilidad para realizar ensayos en sitios aislados, en situaciones que requieran gran delicadeza en el tratamiento térmico de muestras con bacterias necesitadas de recuperación y varias aplicaciones no habituales en las cuales han mostrado un excelente desempeño.

2.1.8.1. Empleo de las Placas Petrifilm™ en la industria de alimentos.

Estás placas se han diseñado para el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en diferentes tipos de muestras entre ellas el agua y los alimentos.

Estás placas son láminas delgadas con un medio de cultivo y un agente solidificante soluble en agua. Algunas placas también pueden estar recubiertas por una película de polipropileno para atrapar el gas producido por algunas bacterias.

También tienen incorporado indicadores de pH que colorean las colonias para facilitar su identificación y están constituidas por cuadrículas para hacer el recuento de las UFC.

2.1.8.2. Placas Petrifilm para Recuento de Aerobios Mesófilos (Aerobic Count AC).

Las Placas Petrifilm AC se utilizan para el recuento de la población total existente de bacterias aerobias en productos, superficies, etc.

Contiene nutrientes del Agar Standard Methods, un agente gelificante soluble en agua fría, y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias. (Ver Imágenes 1 y 2. Placas Petrifilm para Aerobios Mesófilos.)

Imágenes 1 y 2. Placas Petrifilm para Aerobios Mesófilos.



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

2.1.8.3. Placas Petrifilm para Recuento de *E. coli* y Coliformes Totales.

Contienen nutrientes de Bilis y Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de la actividad de glucuronidasa, y un indicador que facilita la enumeración colonial. (Ver Imágenes 3 y 4. Placas Petrifilm para *E.coli*/Coliformes Totales.)

Imágenes 3 y 4. Placas Petrifilm para *E.coli*/Coliformes Totales.

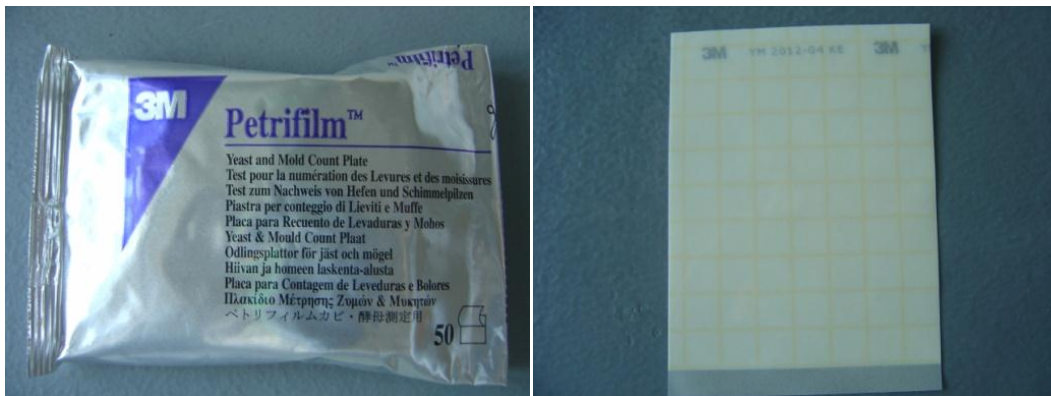


Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

2.1.8.4. Placas Petrifilm para Recuento de Mohos y Levaduras.

La placa Petrifilm^{MR} para el Recuento de Mohos y Levaduras es un medio de cultivo listo para usar que contiene nutrientes de “Sabhi”, dos antibióticos (clorotetraciclina y cloramfenicol), indicador de fosfatos (BCIP) un agente gelificante soluble en agua fría y un tinte indicador que facilita el recuento. (Ver Imágenes 5 y 6. Placas Petrifilm para Mohos y Levaduras.)

Imágenes 5 y 6. Placas Petrifilm para Mohos y Levaduras



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

CAPÍTULO 3

3.1. MATERIALES Y METODOLOGÍA

3.1.1. Localización del procesamiento de muestras.

La fase experimental se llevó a cabo en los laboratorios de docencia de la Licenciatura en Microbiología Clínica y Aplicada de la Escuela de Bioanálisis de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

3.1.2. Localización de los sitios de muestreo.

El estudio se realizó en las cocinas de un hospital de la ciudad de Quito. Las superficies muestreadas y las características se detallan a continuación en la siguiente tabla. Tabla 1, Superficies muestreadas.

Tabla 1: Superficies muestreadas.

Superficie	CARACTERÍSTICAS DE LA SUPERFICIE
Mesa fija 1	Está destinada para el procesamiento de hortalizas, verduras y carnes cocidas.
Mesa fija 2	Es utilizada para descongelar carnes, procesar legumbres, carnes crudas y alimentos con algún tipo de cocción. Se encuentra ubicada entre 2 lavabos.
Mesa fija 3	Es utilizada para preparar jugos y en ella también se colocan los platos sucios para su posterior lavado. Se encuentra ubicada debajo del depósito de desechos.
Mesa móvil 1	Superficie en la que se procesan frutas y vegetales, también es utilizada para transportar bebidas y jugos a las habitaciones de los pacientes
Mesa móvil 2	Aquí se procesan frutas y también es utilizada para transportar los alimentos a las habitaciones de los pacientes
Mesa móvil 3	En esta se preparan vegetales y jugos, también sirve para transportar los alimentos a las habitaciones de los pacientes
Cuchillo 1	Utilizado para cortar carne cruda (27 cm largo, 6.30cm ancho en la base, 5.30cm de ancho en la parte media, 3cm ancho de ancho en la punta)
Cuchillo 2	Utilizado para deshuesar (15 cm largo, 2cm ancho en la base, 1.1 cm de ancho en la punta)
Cuchillo 3	Empleado para cortar pan y jamones (30 cm largo, 2.5 ancho)
Cuchillo 4	Empleado para cortar frutas (15.5 cm largo, 3 cm de ancho en la base , 2 cm de ancho en la punta)
Tabla roja 1	Utilizadas para carnes crudas (pollo, res, pescado, cerdo)
Tabla roja 2	
Tabla amarilla 1	Utilizadas para alimentos ya desinfectados o cocidos como: frutas y verduras
Tabla amarilla 2	
Tabla blanca 1	Utilizadas para alimentos cocinados o listos para el consumo como: canes, pan, quesos y embutidos
Tabla blanca 2	
Tabla verde 1	Utilizadas para alimentos sin desinfectar o cocinar como: frutas, verduras, hortalizas y legumbres
Tabla verde 2	

Elaborado por Maribel Peñafiel y Gabriela Vargas

3.1.3. Codificación de las superficies

Las superficies y utensilios muestreados fueron codificados con una nomenclatura específica para poderlos identificarlos. La codificación esta detallada en la Tabla 2, Nomenclatura de las superficies.

Tabla 2: Codificación de las superficies.

Superficie	Código
Mesa fija 1	MF1
Mesa fija 2	MF2
Mesa fija 3	MF3
Mesa móvil 1	Mm1
Mesa móvil 2	Mm2
Mesa móvil 3	Mm3
Cuchillo 1	C1
Cuchillo 2	C2
Cuchillo 3	C3
Cuchillo 4	C4
Tabla roja 1	TR1
Tabla roja 2	TR2
Tabla amarilla 1	TA1
Tabla amarilla 2	TA2
Tabla blanca 1	TB1
Tabla blanca 2	TB2
Tabla verde 1	TV1
Tabla verde 2	TV2

Elaborado por Maribel Peñafiel y Gabriela Vargas

3.1.4. Número de muestras

Se tomaron 216 muestras en la primera fase antes de la capacitación y 216 muestras después de la capacitación. Con un total de 432 muestras durante todo el estudio.

3.1.5. Muestreo

El muestreo se realizó en dos fases, uno antes de la capacitación y otro luego de la capacitación, todo este proceso duró dos meses en total.

3.1.6. Tiempo de toma muestras.

El primer muestreo se realizó desde el 21 de junio al 8 de julio 2011, y la segunda toma de muestras luego de la capacitación desde el 8 de agosto al 26 agosto 2011.

3.1.7. Momento de toma de muestra

La toma de muestras se la realizó sólo después de la limpieza y desinfección de las superficies antes de iniciar la jornada de trabajo (antes del desayuno) y al finalizar la preparación del almuerzo. Esto se efectuó dos días a la semana durante dos meses.

3.1.8. Materiales

Los reactivos, materiales, soluciones y equipos y medios utilizados fueron:

Equipos

- Incubadora PRECISION ubicada en el laboratorio N°2 de docencia de Microbiología.
- Balanza de precisión ADAM ubicada en el área de esterilización y preparación de materiales.
- Mecheros ubicados en el laboratorio N°2 de docencia de Microbiología.
- Autoclave MARKET FORGE STERIL MATIC ubicada en el área de esterilización y preparación de materiales.
- Estufa FANEM ubicada en el área de esterilización y preparación de materiales.
- Refrigeradora ECASA ubicada en el laboratorio de Microbiología Clínica.

Reactivos y Soluciones

- Caldo Lethen de 3M (fecha de caducidad: 20/10/12)
- Cloro Ajax al 1% (desinfectante)
- Tego de Merck al 2% (desinfectante)

Materiales

- Placas Petrifilm TM 3M para *E.coli*/ Coliformes totales, Mesófilos Aerobios, Mohos y Levaduras (fecha de caducidad: 20/10/12).
- Hisopos Quick Swab 3M (fecha de caducidad: 15/11/12).
- Pipetas Droptek de 100 – 1000 ul calibradas. (Anexo16)
- Tubos de tapa rosca 15 ml
- Frascos plásticos estériles
- Plantillas para muestreo de 20 cm²
- Papel absorbente
- Cinta para esterilización
- Refrigerantes
- Cooler
- Fundas rojas para desecho de materiales
- Papel empaque
- Puntas de 1 ml
- Guantes
- Mascarillas
- Gorras
- Mandil

3.1.9. Control de Calidad de equipos

Durante el estudio los equipos y materiales utilizados fueron monitoreados constantemente para verificar su adecuado funcionamiento, y de esta manera garantizar los resultados obtenidos.

3.1.10. Pipetas

La calibración de las pipetas fue realizada en el laboratorio DISerLAB –PUCE. (Anexo 16). Ver Imagen 7. Pipetas utilizadas para la siembra de las muestras.

Imagen 7. Pipetas utilizadas para la siembra de las muestras.



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

3.1.11. Incubadora

El control de temperatura de este equipo se llevo a cabo todos los días mediante hojas de registro que constan en el Anexo14. (Ver Imagen 8. Equipo utilizado para la incubación de las muestras).

Imagen 8. Equipo utilizado para la incubación de las muestras



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

3.1.12. Esterilización

El material que requería ser esterilizado: caldo, puntas, frascos y tubos fueron esterilizados en el autoclave a 121°C, a 15psi durante 15 minutos y las plantillas de cartón de 20cm² en la estufa a 160-180°C durante 2 horas. Este proceso se realizó para garantizar la autenticidad los resultados obtenidos. Para verificarlo se utilizó la cinta de control de esterilización. (Ver Imagen 9. Caldo Lethen con cinta de control de esterilización).

Imagen 9. Caldo Lethen con cinta de control de esterilización



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

3.1.13. Cepas de Control

Para el control de calidad de las placas PetrifilmTM 3M de Mesófilos Aerobios, *E.coli* / Coliformes Totales y del caldo Lethen se utilizó una cepa nativa de *E.coli* y para Mohos y Levaduras se utilizó una cepa nativa de *Cándida albicans*. Estas fueron suministradas por el laboratorio DIserLAB – PUCE.

Para realizar los controles positivos se procedió a inocular 3ml de caldo Lethen con varias colonias aisladas de las cepas nativas de *E.coli*. Una vez realizada la suspensión se sembró 1ml en la placa para Aerobios Mesófilos y 1ml en la placa de *E.coli* / Coliformes Totales. Para el control positivo de las placas de Mohos y levaduras se siguió el mismo procedimiento antes descrito con la cepa nativa de *Cándida albicans*. De esta forma se verificó que las placas Petrifilm se encontraban en condiciones óptimas para la obtención de resultados fiables, puesto que se observó el crecimiento de los microorganismos esperados.

Para el control negativo o blanco se sembró en las placas Petrifilm™ 3M de Mesófilos Aerobios, *E.coli* / Coliformes Totales, Mohos y Levaduras, 1 ml de caldo Letheen con tween 80 estéril. De esta forma se pudo comprobar la esterilidad y funcionalidad del caldo y de los medios de cultivo, ya que no existió crecimiento en las Placas Petrifilm utilizadas.

Los controles positivo y negativo fueron realizados dos veces por semana.

3.1.14. Refrigeración

Todo el material que se utilizó durante nuestro estudio se mantuvo en refrigeración a una temperatura de 2 – 8 °C, siendo monitoreado y registrado por las tesisistas. (Ver Anexo 15).

3.1.15. Protocolo de trabajo

Para la recolección de muestras en las cocinas del hospital, las tesisistas utilizamos un equipo de protección adecuado para resguardar la salud e integridad, y también para evitar la contaminación tanto del ambiente como de las muestras. El equipo utilizado constaba de: mandil, gorro, tapa bocas y guantes de látex como se ve en las imágenes 10 y 11. Equipo de protección utilizado para recolección y procesamiento de muestras.

Imágenes 10 y 11. Equipo de protección utilizado para recolección y procesamiento de muestras.



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel.

3.1.15.1. Toma de las muestras

3.1.15.1.1. Técnica del hisopado en superficies inertes

Consiste en frotar con un hisopo estéril previamente humedecido en una solución diluyente, el área determinada en el muestreo. Se utiliza para superficies inertes regulares e irregulares que están en contacto con los alimentos, tales como tablas de picar, bandejas, mesas de trabajo, utensilios, equipos, menaje, entre otros. ⁽²²⁾

Los hisopos Quick Swab™ de 3M son un sistema de monitoreo microbiológico, que consiste de un hisopo de rayón de 13 cm de largo, que contiene caldo Lethen con tween 80 que facilita la recuperación de la bacterias. Los hisopos pueden utilizarse secos o húmedos para muestrear superficies e inocular rápida y directamente 1 mL de la muestra sobre una placa Petrifilm™. ⁽²⁸⁾ (Ver Imagen 12. Hisopos Quick swab de 3M utilizados para el muestreo.)

Imagen 12. Hisopos Quick swab de 3M utilizados para el muestreo.



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

3.1.15.1.2. Recolección de la muestra.

Todo el material que se utilizó para la recolección de las muestras se encontraba estéril y a una temperatura de 4⁰ - 8⁰C en el cooler con refrigerantes.

Para tomar las muestras lo primero que realizamos, fue la identificación de cada uno de los tubos con caldo Lethen así como de las plantillas con sus respectivos códigos de acuerdo a la superficie muestreada.

A continuación se procedió a colocar la plantilla de cartón estéril de 20 cm² sobre la superficie sanitizada a evaluar y con el hisopo previamente empapado con caldo Letheen se frotó los 20 cm² del área expuesta, realizando trazos en sentido horizontal, vertical y diagonal. Este procedimiento se repitió cinco veces en total, enjuagando el hisopo en el caldo después de cada frotado, de esta manera se muestreó 100 cm² de la superficie analizada.

En el caso de los cuchillos se tomó la muestra sin plantilla, y lo que se hizo fue muestrear toda la hoja de metal del cuchillo desde la base hasta la punta. Igualmente este procedimiento se ejecutó cinco veces completando un área de 100 cm² en total.

3.1.15.1.3. Transporte

Se utilizó un cooler con refrigerantes a una temperatura aproximada de 4 – 8 °C, para transportar las muestras al laboratorio. (Imágenes 13 y 14. Cooler con refrigerantes para transportar la muestra al laboratorio.)

Imágenes 13 y 14. Cooler con refrigerantes para transportar la muestra al laboratorio.



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

3.1.16. Procesamiento de las muestras

3.1.16.1. Técnica de recuento de Aerobios Mesófilos , Coliformes Totales y *E.coli*, Mohos y Levaduras con placas petrifilm. 3M. ⁽¹⁸⁾ (Anexo 10)

En el laboratorio se procedió a realizar el siguiente procedimiento para la siembra de la muestra y el posterior recuento de las colonias:

1. Homogenizar la muestra
2. Colocar la placa Petrifilm en una superficie plana, levantando el film superior.

3. Con una pipeta perpendicular a la placa Petrifilm colocar 1 mL de muestra en el centro del film inferior.
4. Bajar el film superior y dejar que caiga. Con la cara lisa hacia arriba, colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo.
5. Con cuidado ejercer presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No girar ni deslizar el aplicador
6. Levantar el aplicador. Esperar un minuto a que se solidifique el gel.
7. Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas de acuerdo a los tiempos y temperaturas respectivos de cada microorganismo. **Aerobios Mesófilos:** 48 hrs. (± 3 hrs.) a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$). **Mohos y Levaduras:** $25^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 3 a 5 días. **Coliformes Totales y *E.coli*:** a $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 24 horas. (11) (Ver Anexo)

3.1.17. Lectura de placas PetrifilmTM 3M e interpretación de resultados.

La lectura de las Placas PetrifilmTM se la realizó luego del periodo de incubación correspondiente, de acuerdo a las indicaciones que se encontraban en las guías de 3M, para cada uno de los microorganismos estudiados.

A continuación se realizó la interpretación de resultados y se reportó el número de colonias por 20 cm^2 .

3.1.17.1. Características de las colonias y recuento de los microorganismos.

3.1.17.1.1. Placas Petrifilm para recuento de Aerobios Mesófilos

Las colonias se colorean con un tinte indicador de color rojo denominado TTC (trefenil tetrasolium clorado) para facilitar su identificación. Sin importar el tamaño de las colonias o la intensidad del color se realiza un conteo de la población total. El rango recomendado para el recuento es de 25 a 250 UFC. ^(58,59) (Anexo 11)

3.1.17.1.2. Placas Petrifilm para recuento de *E.coli*/Coliformes Totales

Estas placas contienen un indicador de la actividad de glucuronidasa denominado BICIG (5-bromo-4-cloro-3-indolil-beta-D-glucorónido), y un indicador que facilita la enumeración colonial TTC (tricloruro de trifeníl tetrazolio). La mayoría de las *E. coli* (cerca del 97%) producen beta-glucuronidasa la cual produce un precipitado azul asociado con la colonia. El film superior atrapa el gas producto de la fermentación de lactosa por parte de *E. coli* y Coliformes Totales. En la placa las colonias confirmadas de *E. coli* son de color rojo azuladas y/o azules asociadas con burbujas de gas, mientras que los Coliformes presentan colonias rojas asociadas con burbujas de gas. El rango para el recuento es de 15 a 150 UFC. ^(58,59) (Anexo 12).

3.1.17.1.3. Placas Petrifilm para recuento de Mohos y Levaduras

Las Placas Petrifilm para Mohos y Levaduras poseen un indicador de fosfatos (BCIP) que promueve el contraste y facilita el recuento de las colonias. Las colonias de levaduras pueden tener diferentes tonalidades desde beige, rosa, o azul verdoso, y son de tamaño muy pequeño con bordes bien definidos. Los Mohos, son relativamente grandes, con bordes difusos y sus colonias tienen diferentes tonalidades desde café, beige, naranjas, azul verdoso, negras, etc. El rango para el recuento de Mohos y Levaduras es de 15 a 150 UFC. ^(58,59) (Anexo 13).

3.1.18. Desecho del material utilizado

Al finalizar el procesamiento de las muestras, el material fue dividido en reutilizable (tubos de 15 ml, frascos de vidrio y plástico) el cual fue lavado y autoclavado para su desinfección, y en desechable (guantes, mascarillas, gorros, placas Petrifilm utilizadas, hisopos, etc.). Para el material desechable se utilizó como depósito fundas plásticas de color rojo y botellas de plástico (hisopos), las cuales fueron entregadas al personal de limpieza del área de Microbiología de la Escuela de Bioanálisis, para su autoclavado y disposición final.

3.1.19. Análisis estadístico

Para el análisis y procesamiento de datos se aplicó un diseño ANOVA completamente al azar tanto para los tres sitios de toma de muestras (mesas, cuchillos y tablas de

cocina) como para cada microorganismo (mésofilos, *E.coli* y coliformes totales y mohos y levaduras).

También se efectuó una prueba de T de Student relacionada entre el proceso actual sin monitoreos previos y después de la capacitación con el propósito de evaluar el efecto de la misma. ^(49,50)

El análisis de datos se realizó con el software estadístico SPSS.

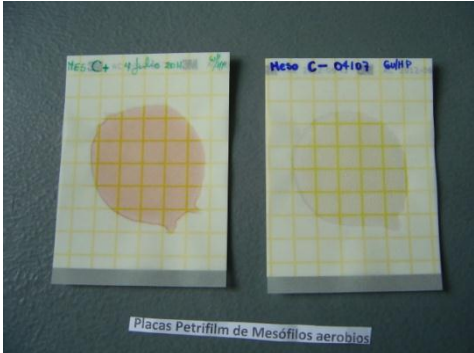

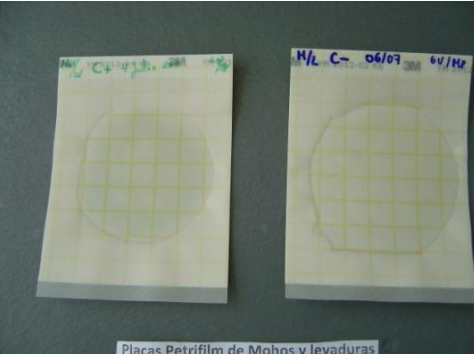
CAPITULO 4

4.1. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para garantizar la validez y confiabilidad de los resultados obtenidos, previamente se limpiaron y desinfectaron los mesones de trabajo del laboratorio, además se usó el equipo de protección personal individual para evitar contaminaciones de la muestra y del ambiente.

También se utilizaron las cepas nativas de *E.coli* para realizar los controles positivos de las placas Petrifilm de Aerobios Mesófilos, *E.coli* / Coliformes Totales, y *Cándida albicans* para Mohos y Levaduras. De esta manera se pudo comprobar la funcionalidad de los medios de cultivo utilizados (Placas Petrifilm) para cada microorganismo analizado. (Ver Tabla 3. Resultados de los controles)

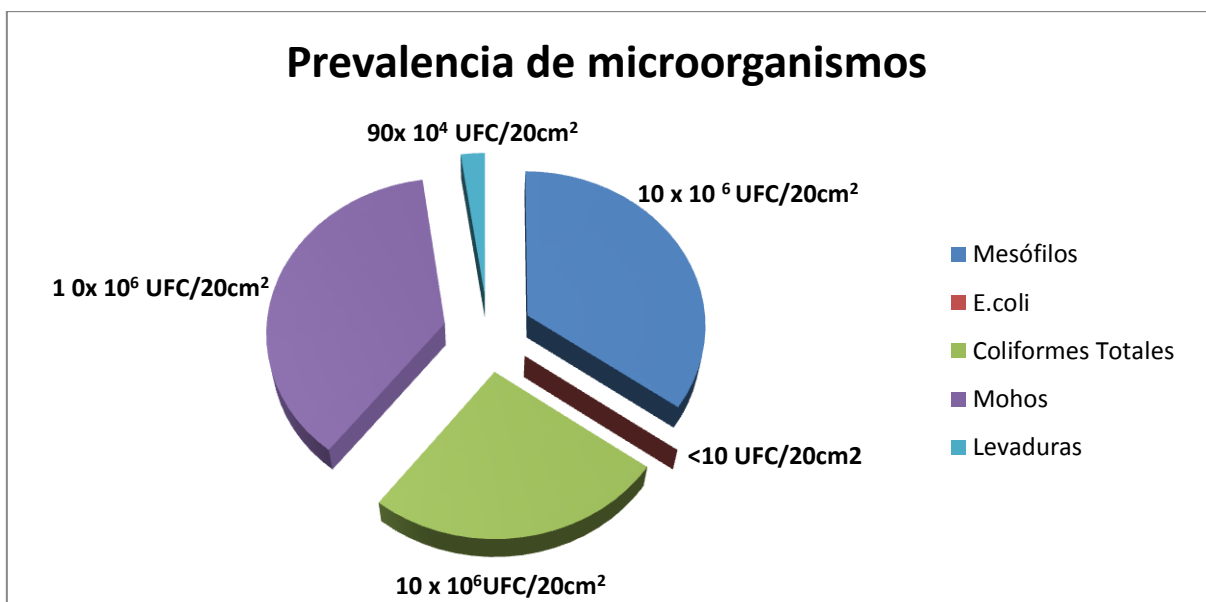
Tabla 3: Resultados de los controles

RESULTADOS DE LOS CONTROLES		
Microorganismos	Características de las colonias en las placas Petrifilm.	Controles positivo y negativo
Aerobios Mesófilos	Colonias rojas, de distintos tamaños.	<p>Imagen 15. Controles positivo y negativo de Aerobios Mesófilos</p>  <p>Placas Petrifilm de Mesófilos aerobios</p> <p>Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel</p>
<i>E.coli</i> / Coliformes Totales	<p><i>E.coli</i> colonias de color rojo azuladas y/o azules asociadas con burbujas de gas.</p> <p>Coliformes presentan colonias rojas asociadas con burbujas de gas.</p>	<p>Imagen 16. Controles positivo y negativo de <i>E.coli</i>/Coliformes Totales</p>  <p>Placas Petrifilm de E.coli y Coliformes totales</p> <p>Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel</p>
Mohos y Levaduras.	<p>Levaduras: colonias muy pequeñas con bordes definidos y con distintas tonalidades desde beige, rosa, o azul verdoso.</p> <p>Mohos: son relativamente grandes, con bordes difusos y sus colonias tienen diferentes tonalidades desde café, beige, naranjas, azul verdoso, negras, etc.</p>	<p>Imagen 17. Controles positivos y negativos de Mohos y Levaduras</p>  <p>Placas Petrifilm de Mohos y levaduras</p> <p>Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel</p>

4.1.1. Análisis de carga microbiana en las superficies analizadas

A partir de los datos obtenidos de las unidades formadoras de colonias (UFC) podemos determinar que el grupo de Mohos (10×10^6 UFC/20 cm²), Mesófilos (10×10^6 UFC/20cm²), y Coliformes Totales (10×10^6 UFC/20cm²), son los microorganismos que prevalecen en las superficies analizadas. A continuación se encuentran las Levaduras (90×10^4 UFC/cm²) y *E.coli* (<10 UFC/20cm²) con menor cantidad. Ver Figura 1.

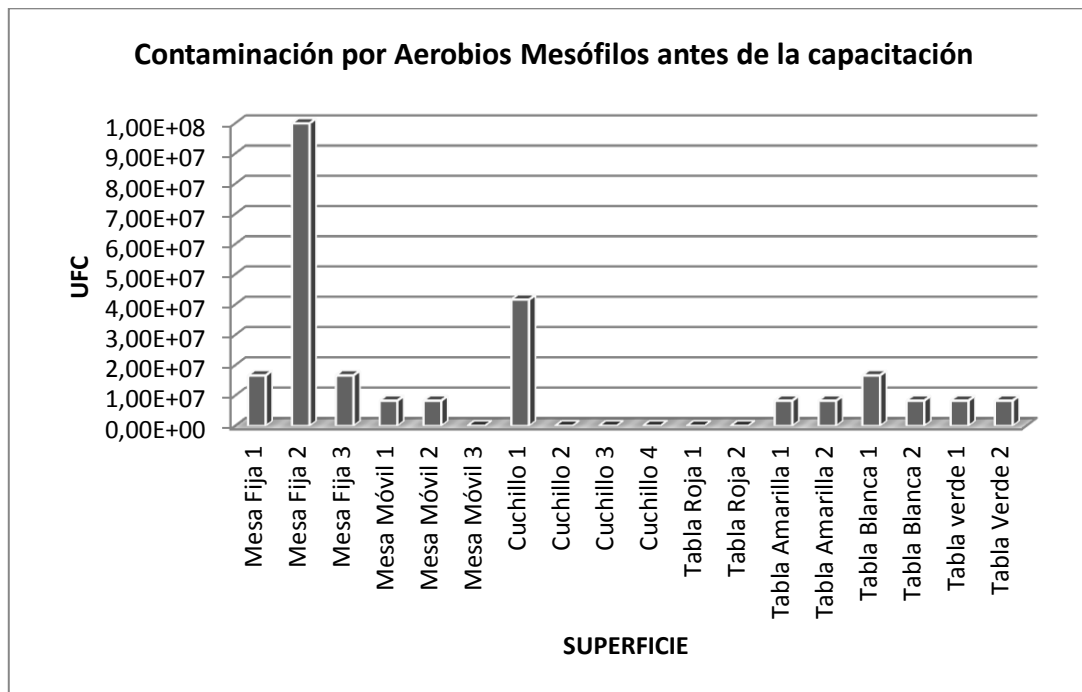
Figura 1. Prevalencia de microorganismos en UFC en las superficies muestreadas.



4.1.2. Análisis de contaminación de Mesófilos antes del proceso de capacitación

En la figura 2 se observa que existen diferencias de contaminación de Mesófilos entre las distintas superficies muestreadas antes de la capacitación ($p=0.000$). Es evidente que la Mesa fija 2, utilizada para descongelar carnes, procesar legumbres, carnes crudas y alimentos con algún tipo de cocción, resultó ser la más contaminada por Mesófilos ($\bar{X} = 10 \times 10^7$ UFC/20cm²). Entre un segundo grupo menos contaminado destaca el Cuchillo 1 ($\bar{X} = 40 \times 10^6$ UFC/20cm²). El resto de superficies conforman un tercer grupo con menor contaminación (27 a 80×10^5 UFC/20cm²). (Ver anexos 1,3,4 y 17).

Figura 2. Niveles de contaminación de Mesófilos antes de la capacitación

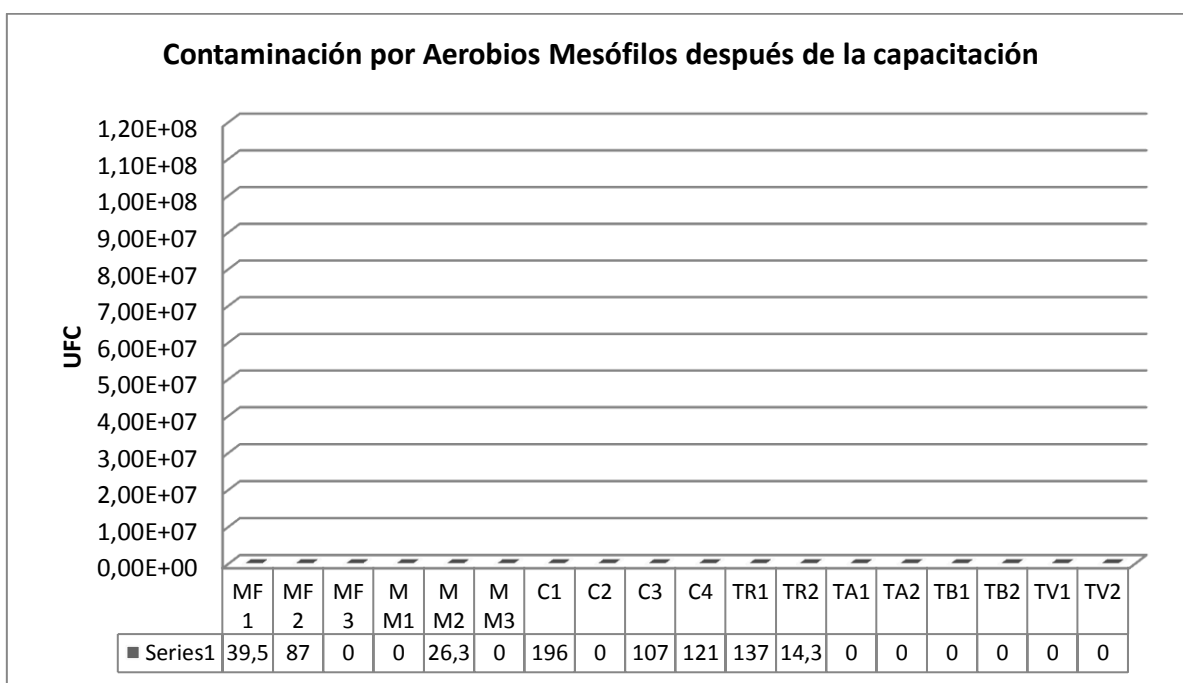


La Mesa fija 2 puede presentar este nivel de contaminación debido a su ubicación, ya que es una mesa esquinera que se encuentra entre dos lavabos lo que propicia la humedad de la zona; además, esta superficie se ubica al lado de las estufas lo cual ayuda la formación de un ambiente cálido y favorable para dicha contaminación; también, los bordes de los lavabos estuvieron escasamente cubiertos con silicón lo que propició la acumulación de restos orgánicos, fuente de nutrientes que genera la proliferación de microorganismos y formación de biofilms. Este silicón se desprendía constantemente de los bordes contaminando toda la superficie de trabajo. Además en esta mesa se procesan varios tipos de materia prima cruda y cocida (vegetales, hortalizas y carnes) lo que puede producir contaminaciones cruzadas.

Con respecto al Cuchillo 1, posiblemente presente este nivel de contaminación debido al tipo de uso requerido, pues se lo utiliza para cortar carne cruda y posiblemente no se lava ni desinfecta de manera adecuada.

4.1.2.1. Análisis de contaminación de Mesófilos después del proceso de capacitación

Figura3. Niveles de contaminación de Aerobios Mesófilos después de la capacitación. Ver correspondencia de codificación en Anexo1.



Una vez realizada la capacitación podemos determinar que el recuento de Mesófilos disminuyó dramáticamente en todas superficies muestreadas, lo cual refleja que la capacitación impartida fue efectiva. Según la prueba estadística de *t de student* se encontró diferencias altamente significativas ($t=12.29$, $p=0.000$) en los niveles de contaminación entre antes y después de la capacitación. (Ver figura 3, anexos 2, 9 y18)

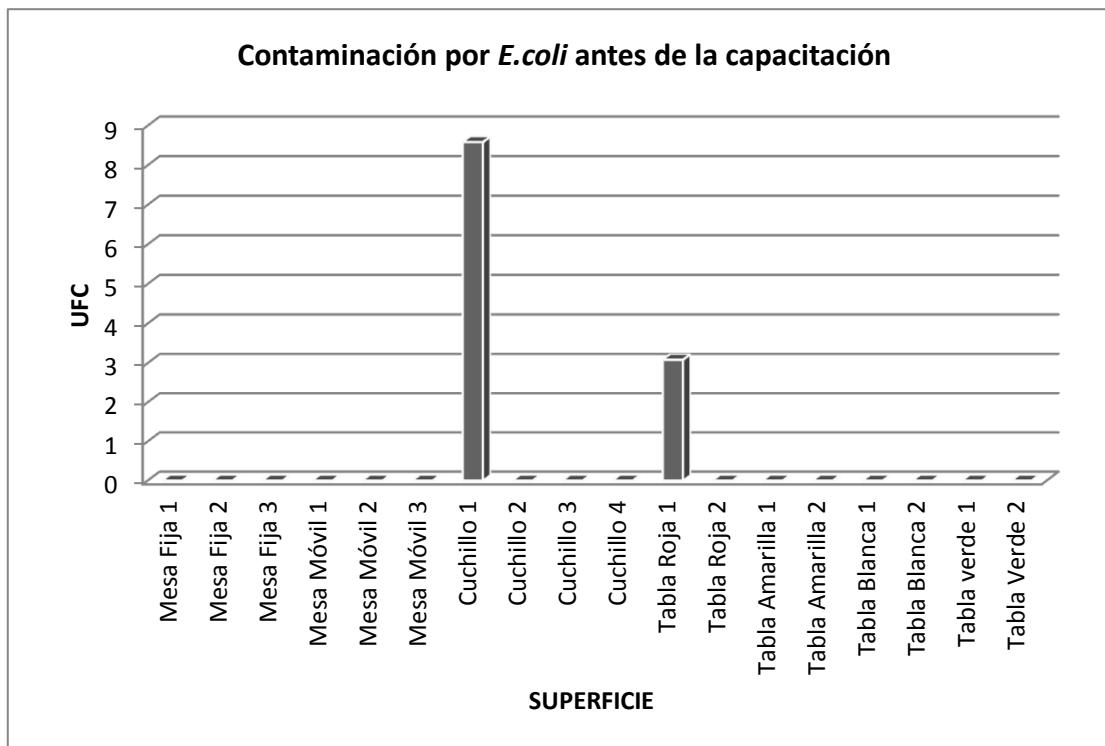
La disminución de los niveles de Mesófilos, se produjo por la correcta aplicación de los procesos de limpieza y desinfección sugeridos en la capacitación como: el seguimiento adecuado y sistematizado de las etapas de limpieza y desinfección de las mesas, la preparación correcta de los desinfectantes, el dejar actuar a los desinfectantes el tiempo establecido por el fabricante (Ver Anexo19). Con respecto a la Mesa fija 2 se taparon los bordes del lavabo con masilla que es un material poco poroso, firme y más

resistente; esta medida ayudó radicalmente a la disminución de los microorganismos presentes en esta superficie, ya que se cubrió los orificios donde se acumulaban restos de alimentos y proliferaban bacterias.

4.1.3. Análisis de contaminación con *E.coli* antes del proceso de capacitación

Para este microorganismo, se encontraron diferencias altamente significativas ($p=0.000$) en cuanto a los niveles de contaminación observados en las diferentes superficies de estudio. Las superficies que presentaron mayor contaminación con esta bacteria fueron el Cuchillo 1 utilizado para cortar carne cruda ($\bar{X} = 9 \text{ UFC}/20\text{cm}^2$) y la Tabla roja 1, utilizada, igualmente, para cortar carne cruda ($\bar{X} = 3 \text{ UFC}/20\text{cm}^2$). Las otras superficies muestreadas no presentaron contaminación por *E.coli*. (Ver figura 4, anexos 1,3,5 y 17).

Figura4. Niveles de contaminación de superficies con *E.coli* antes de la capacitación



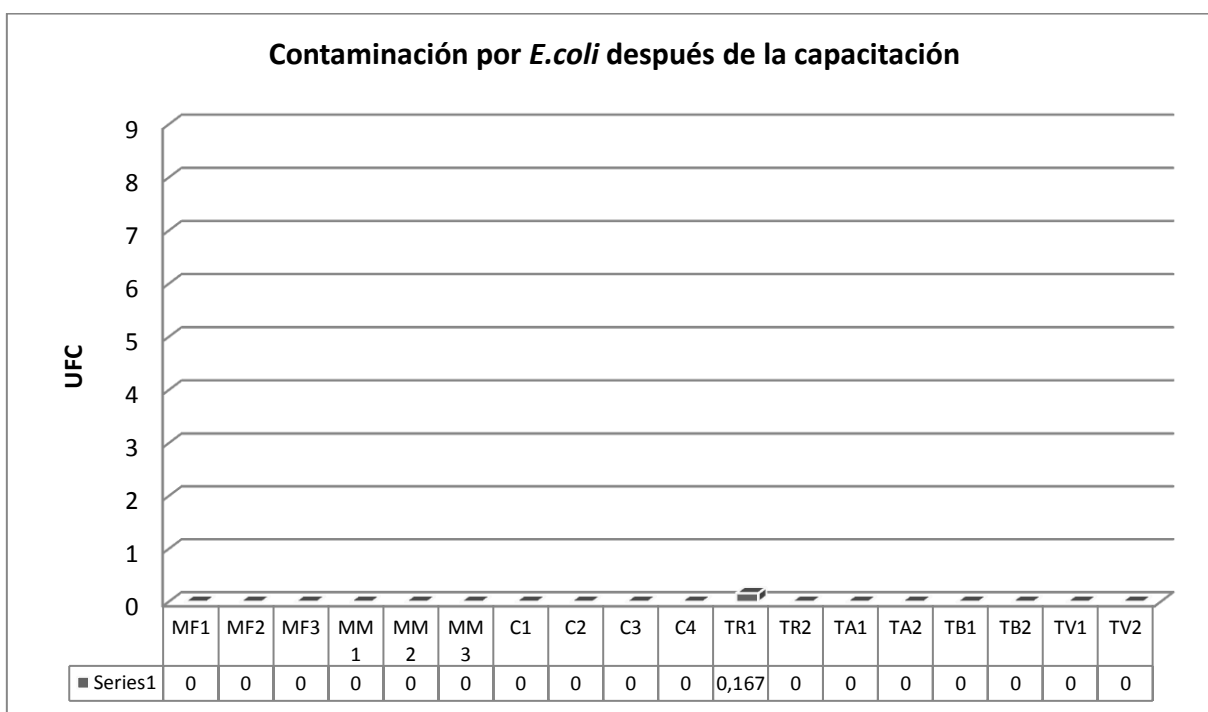
La Tabla roja 1 y el cuchillo 1 mostraron contaminación con *E.coli* debido a que este utensilio de cocina se lo utiliza para cortar carne cruda (pollo, cerdo, res). Probablemente la materia prima (carne) se encontraba contaminada por procesamiento,

manipulación del personal y almacenamiento inadecuados. En muchos productos crudos de origen animal, bajos recuentos de *E. coli* pueden ser esperados dada la asociación cercana de estos alimentos con el ambiente animal y por la probabilidad de la contaminación de las carcasas, reses o materia fecal animal durante la faena.

4.1.3.1. Análisis de contaminación con *E.coli* después del proceso de capacitación

Después de haberse realizado la capacitación se observó que los recuentos de *E.coli* descendieron drásticamente para el Cuchillo 1 (C1) y la Tabla roja 1 (TR1). Demostrándose que capacitación resultó ser altamente efectiva. De acuerdo a la prueba estadística de *t de student* se encontró diferencias altamente significativas con respecto a la contaminación de superficies por *E. coli* ($t=2.789$, $p=0.006$) entre antes y después de la capacitación. (Ver figura 5, anexos 2, 9 y 18).

Figura5. Niveles de contaminación de *E.coli* después de la capacitación. Ver correspondencia de codificación en Anexo1.



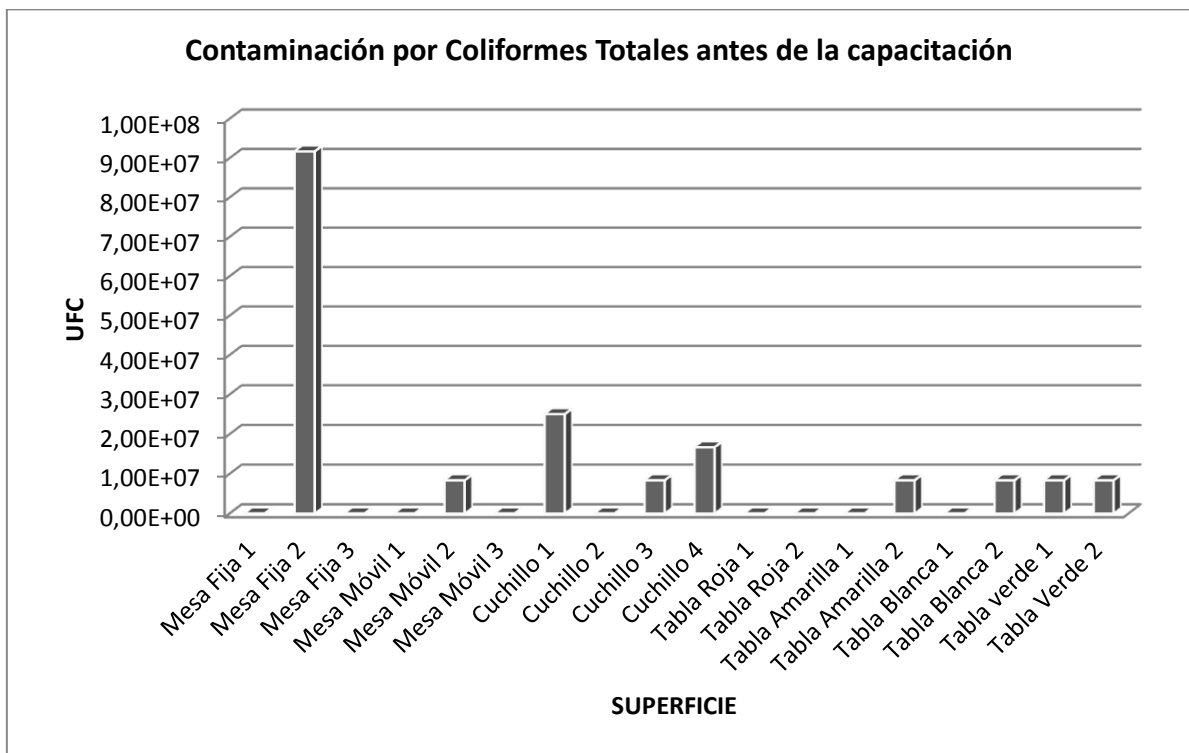
La disminución de los niveles de contaminación de los utensilios contaminados se produjo a partir de las medidas correctivas aplicadas por el personal, por otro lado el cambio constante del desinfectante preparado en los recipientes donde se dejan

sumergidos los cuchillos y tablas de picar ayudó a reducir la carga bacteriana. Además, se propuso la separación en recipientes diferentes de los cuchillos que se utilizan para cortar carne cruda de los empleados para procesar frutas, vegetales y alimentos con algún tipo de cocción, y se procedió a la identificación de cada cuchillo con señales distintivas.

4.1.4. Análisis de contaminación de Coliformes Totales antes del proceso de capacitación

Respecto a Coliformes totales, en la figura 6 se observa que existen diferencias en cuanto al nivel de contaminación de las superficies muestreadas ($p=0.000$). Dentro de las superficies mayormente contaminadas con Coliformes, antes de la capacitación se encuentra nuevamente la Mesa fija 2 ($\bar{X} = 90 \times 10^6 \text{ UFC}/20\text{cm}^2$) y el Cuchillo 1 ($30 \times 10^6 \text{ UFC}/20\text{cm}^2$). El resto de superficies forman un tercer grupo con menos contaminación ($1 \text{ a } 80 \times 10^5 \text{ UFC}/20\text{cm}^2$). (Ver anexos 1,3,6 y 17)

Figura6. Niveles de contaminación de Coliformes Totales antes de la capacitación

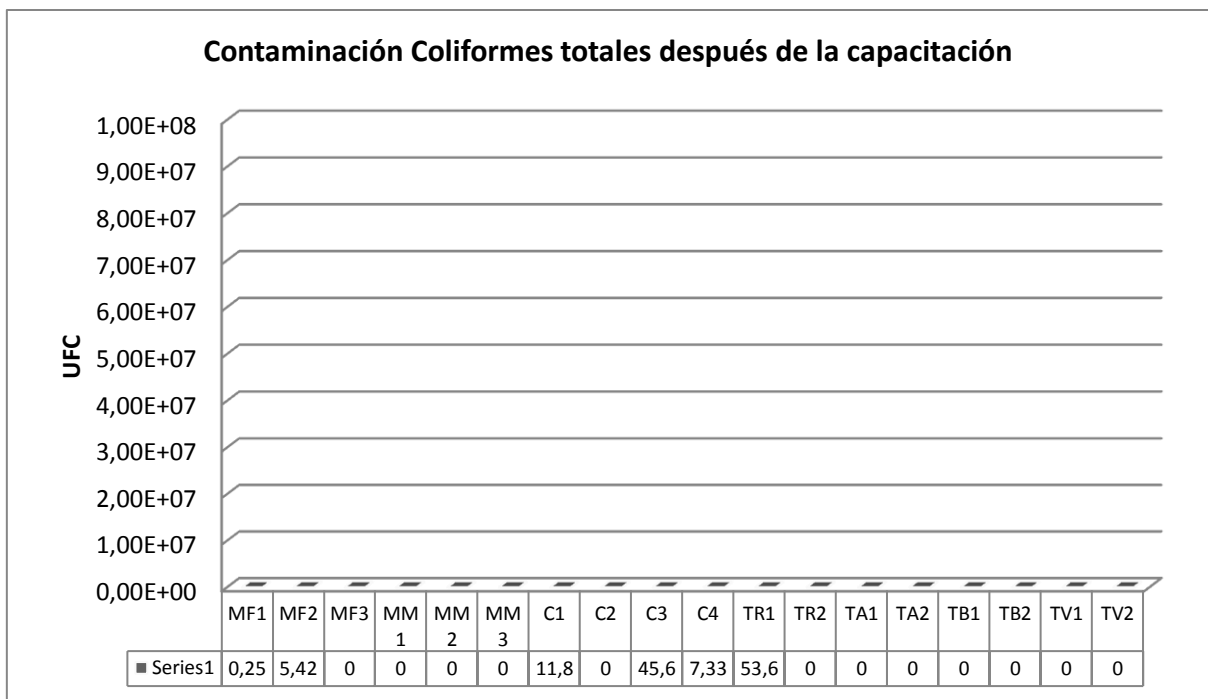


Las superficies examinadas presentan este nivel de contaminación debido a que se utilizan para procesar materia prima sin desinfectar o cruda, la cual puede contener este tipo de microorganismos.

4.1.4.1 Análisis de contaminación de Coliformes Totales después del proceso de capacitación

Una vez realizada la capacitación se observa una disminución notable de los niveles de contaminación de Coliformes totales en todas las superficies muestreadas. Con lo que una vez más comprobamos que el efecto de la capacitación fue altamente positivo debido al seguimiento de las recomendaciones dadas. En este caso, la prueba estadística de *t de student* mostró diferencias altamente significativas en relación a la disminución de la contaminación ($t=6.331$, $p=0.000$). (Ver figura 7, anexos 2, 9 y 18)

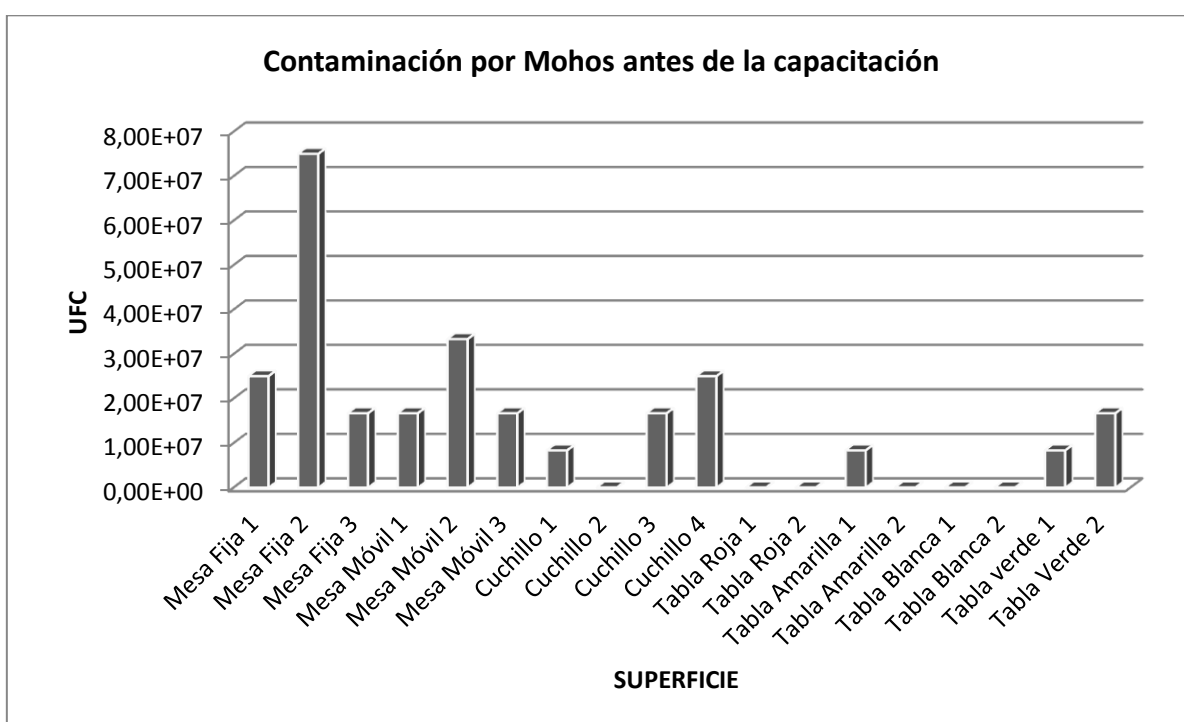
Figura7. Niveles de contaminación de Coliformes Totales después de la capacitación. Ver correspondencia de codificación en Anexo1.



4.1.5. Análisis de contaminación de Mohos antes del proceso de capacitación

En la figura 8 se puede observar que existen diferencias de contaminación con Mohos entre las superficies estudiadas antes de realizarse la capacitación. De acuerdo al análisis realizado la Mesa fija 2 ($\bar{X} = 80 \times 10^6$ UFC/cm²) resultó ser la que presentaba mayor contaminación con este microorganismo. Dentro de un segundo grupo que presenta menor contaminación se encuentra la Mesa móvil 2 ($\bar{X} = 30 \times 10^6$ UFC/cm²). (Ver anexos 1,3,7 y 17)

Figura8. Niveles de contaminación de Mohos antes de la capacitación



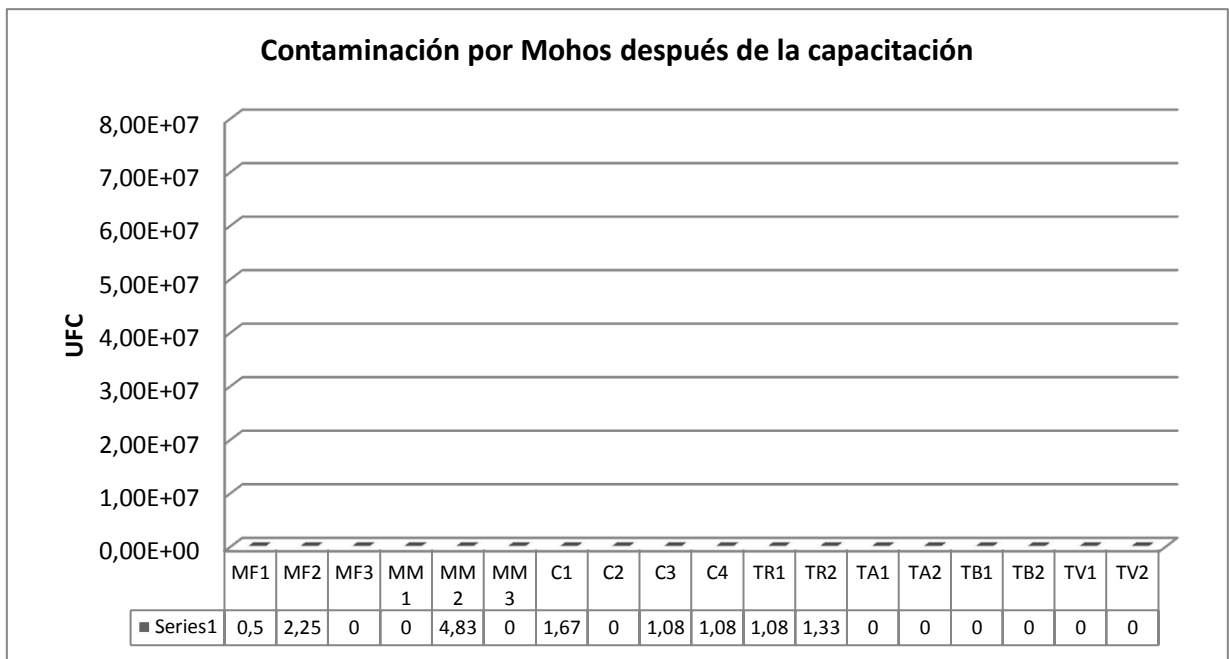
Como ya se mencionó anteriormente la Mesa fija 2, presenta un nivel alto de contaminación por mohos por su ubicación cercana a los lavabos, lo que crea un ambiente húmedo que favorece el crecimiento de estos microorganismos.

Con respecto a la mesa móvil 2, en esta se procesan frutas, las cuales son portadoras de una flora normal, en sus cascaras, tanto de mohos y como de levaduras, por lo que se supone que las frutas y los utensilios no son lavados y desinfectadas de manera correcta.

4.1.5.1. Análisis de contaminación de Mohos después del proceso de capacitación

El proceso de capacitación demostró ser altamente eficiente, ya que en la figura 9 se evidencia que existió un descenso en los recuentos de mohos en cada superficie analizada. En este caso, la prueba estadística de *t de student* demostró diferencias altamente significativas con respecto a la contaminación de las superficies ($t=8.068$, $p=0.000$) entre antes y después de la capacitación. (Ver anexos 2,9 y 18).

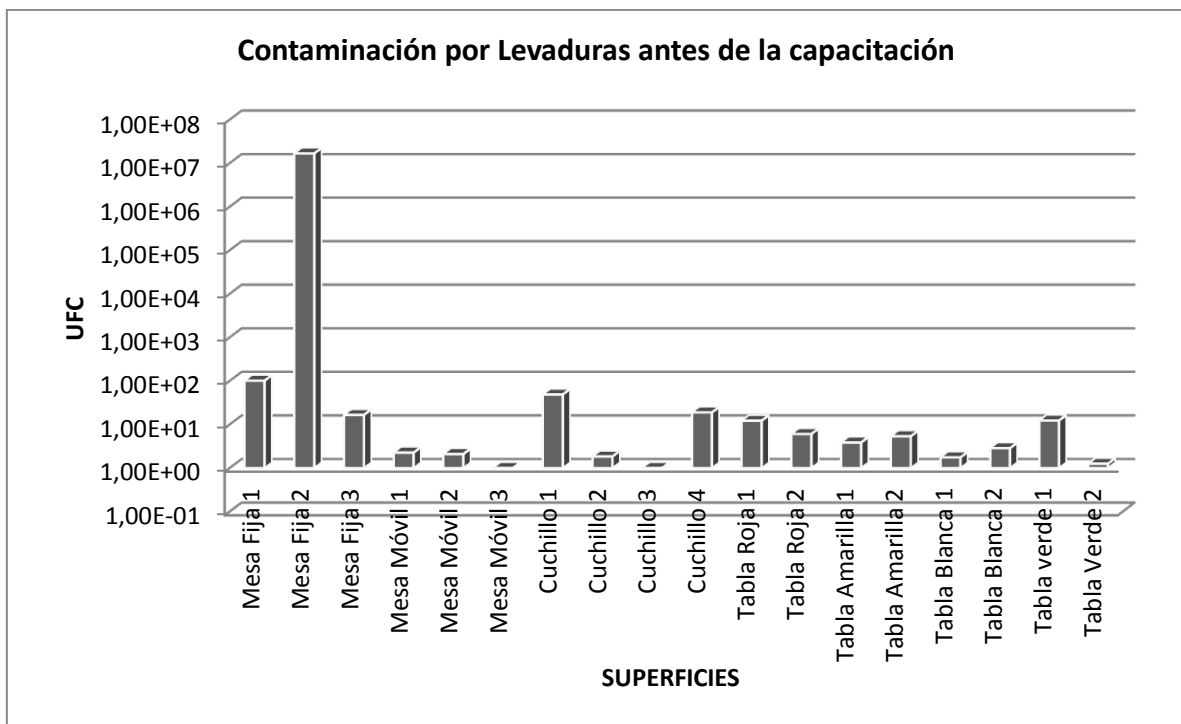
Figura9. Niveles de contaminación de Mohos después de la capacitación. Ver correspondencia de codificación en Anexo1.



4.1.6. Análisis de contaminación de Levaduras antes del proceso de capacitación

En relación a las levaduras, en la figura 10 se observa que hay diferencias entre los niveles de contaminación de cada superficie analizada ($p=0.014$), siendo la Mesa fija 2 ($\bar{X} = 20 \times 10^6$ UFC/20cm²) la que presentó mayor contaminación con este microorganismo, antes de la realización de la capacitación. Dentro de un segundo grupo menos contaminado destaca la Mesa fija 1 ($\bar{X} = 101$ UFC/20cm²) (Ver anexos 1,3,8 y 17).

Figura10. Niveles de contaminación de Levaduras antes de la capacitación



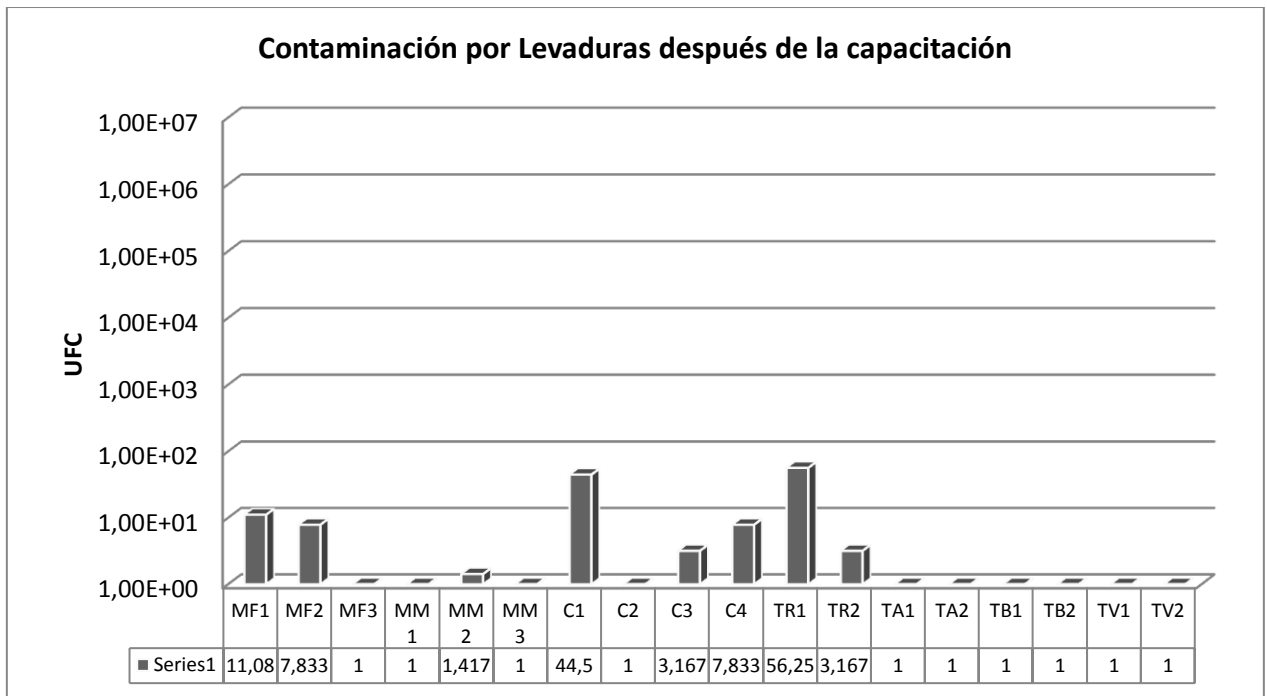
Estos niveles de contaminación en la Mesa fija 1 pueden deberse a que en esta superficie exclusivamente se pelan las cáscaras de las frutas, las cuales tienen como flora normal a estos microorganismos, lo que nos indica que las frutas no son lavadas de manera adecuada y que los procesos de limpieza y desinfección no son efectivos para eliminar la carga microbiana.

Con respecto a la Mesa fija 2 como ya se mencionó, es utilizada para procesar todo tipo de materia prima especialmente sin desinfectar o lavar.

4.1.6.1. Análisis de contaminación de Levaduras después del proceso de capacitación

En la figura 11 se observa que los recuentos en las diferentes superficies a disminuido notablemente después de la capacitación, con excepción de la Tabla roja 1. Todas las acciones correctivas que se aplicaron a partir de la capacitación redujeron el nivel de contaminación drásticamente con levaduras de las mesas de trabajo y utensilios de cocina. Según la prueba de *t de student* se encontró diferencias altamente significativas ($t=3.422$, $p=0.001$) en los niveles de contaminación entre antes y después de la capacitación. (Ver anexos 2,9 y 18).

Figura11. Niveles de contaminación Levaduras después de la capacitación. Ver correspondencia de codificación en Anexo1.



CAPITULO 5

5.1 CONCLUSIONES

- Los muestreos microbiológicos realizados antes de la capacitación indicaron que los procesos de limpieza y desinfección no son eficientes para disminuir la carga microbiana.
- Los Aerobios Mesófilos, Coliformes Totales, Mohos y Levaduras se desarrollan rápidamente en superficies en condiciones húmedas alcanzando recuentos de 10^7 UFC/ 20cm^2 . Sin embargo la limpieza y desinfección de las superficies son medidas eficaces para minimizar la proliferación microbiana. A pesar de eso existen microorganismos que pueden sobrevivir durante algún tiempo en las superficies produciendo contaminación cruzada.
- La utilización de las placas Petrifilm constituye un método rápido, simple y alternativo para verificar la calidad higiénica de las superficies y utensilios de trabajo tras la limpieza y desinfección de cada área. Además la rapidez de resultados permite adoptar medidas correctivas lo antes posible en el caso que se detectasen superficies en condiciones microbiológicas insatisfactorias que puedan suponer un riesgo para la salud o la recontaminación del producto.
- Mediante el análisis estadístico realizado se demostró que las superficies más contaminadas con Aerobios Mesófilos, Coliformes totales, Mohos y Levaduras, fueron la Mesa fija 2 debido al tipo de materias primas que allí se procesan, al igual que las condiciones físicas en que la mesa se encontraba y las circunstancias ambientales de elevada humedad. Y el cuchillo 1, debido a que con el cortan carnes crudas y sus residuos no siempre pueden ser bien eliminados en ciertas estructuras del cuchillo.
- La transferencia de información hacia el personal fue eficiente, lo cual se verificó con nuevos análisis microbiológicos que mostraron una notoria disminución de la carga microbiana en las superficies analizadas y también un cambio tanto en la infraestructura como en los hábitos de trabajo.

5.2 RECOMENDACIONES

- Utilizar diferentes tipos de utensilios para la elaboración y manipulación de alimentos crudos y cocinados.
- Limpiar y desinfectar adecuadamente de acuerdo a procedimientos estandarizados establecidos por la empresa, antes de comenzar con la jornada laboral y cada vez que se termine de procesar un alimento.
- Separar los diferentes tipos de cuchillos como son los de carne en un recipiente distinto para tener un mayor control con este tipo de utensilio y evitar contaminaciones cruzadas.
- Dosificar de forma correcta el desinfectante para cada uno de los utensilios y superficies, además se debe controlar el tiempo recomendado por la casa comercial del desinfectante para que este actúe de manera adecuada y sea efectiva su aplicación.
- Cambiar cada dos o tres horas las diluciones de desinfectantes que se encuentran en las diferentes cubetas de plástico en las que se encuentran depositados los utensilios.
- Las carnes crudas que van ser procesadas, se las debe sumergir previamente en agua hirviendo para así disminuir la carga microbiana que pueda existir en el producto.
- En la infraestructura de las cocinas del hospital no se recomienda colocar material de silicona ya que este, de acuerdo a su ubicación y uso favorece al crecimiento microbiano y facilita la contaminación cruzada.
- Capacitar a todo el personal involucrado en la manipulación de alimentos de la cocina del hospital de forma periódica.
- Supervisar los procesos de limpieza y desinfección constantemente.
- Chequear la efectividad de los desinfectantes utilizados.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALUFFI Oates Lorna/ Rembado Mabel., Enfermedades Transmitidas por Alimentos - ETAs. Internet. http://www.calidadalimentaria.net/que_son_las_etas.php. Acceso 12-10-2010.
2. AIB Internacional, Propuesta de capacitación revisión de las buenas prácticas de manufactura para alimentos procesados. decreto ejecutivo 3253 del registro oficial 696 de ECUADOR1213 BAKERS WAY. Manhattan, Kansas 66502 USA : s.n., 2009. Internet. https://americalatina.aibonline.org/.../Sp_BPMs_EC_Proposal_2009.pdf , Acceso 06 -11-2010.
3. ANGARITA Bautista Leidy Yudith, et al, Recuento de coliformes en alimentos. Internet. <http://www.scribd.com/doc/8426634/Recuento-de-Coliformes-en-Alimentos>. Acceso 10/08.
4. ANMAT (Administración Nacional de medicamentos, Alimentos, y Tecnología Médica), Enfermedades transmitidas por alimentos, <http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/Enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos.pdf>, Acceso 05/11/11.
5. ANMAT (Administración Nacional de medicamentos, Alimentos, y Tecnología Médica), Guía de Interpretación de Resultados Microbiológicos de Alimentos. Internet. http://www.anmat.gov.ar/alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf. Acceso 02/11/11.
6. ARMADA Dominguez Lourdes, Ros Oliver Cristian, Manipuladores de alimentos, la importancia de la higiene en la elaboración y servicio de comidas, España, 2006. Internet. http://books.google.com.ec/books?id=TdQoX6U8MsEC&pg=PA6&dq=manipuladores+de+alimentos&hl=es&ei=uLjhTPKcCoH7lwfykanfAw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q&f=false. Acceso 17/03/10.
7. ASHBOLT, N.J., W.O.K. Grabow and M. Snozzi (2001). Indicators of microbial water quality. In Fewtrell, L. and Bartram, J. (ed.), Water Quality: Guidelines, Standards and Health. Risk assessment and management for water-related infectious disease. IWA Publishing, London. Internet. www.who.int/entity/water_sanitation_health/dwq/iwachap13.pdf. Acceso 05/11/11.
8. CAMACHO A. , et al., Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México. 2009. Internet. http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/TecnicBasicas-Cuenta-mohos-levaduras_6530.pdf. Acceso 28/08/10.
9. CANO Rueda Sara, Métodos de Análisis Microbiológico. NORMAS ISO, UNE. Internet. <http://www.scribd.com/doc/27307620/metods-aerobios-mesofilos>. Acceso 29/10/10.
10. CASONU Marcela, Contaminación Cruzada de los Alimentos. Internet <http://www.aadynd.org.ar/docs/comunidad/adultos/Contaminacion%20cruzada%20de%20los%20alimentos.pdf>. Acceso 29/08/10.
11. DÍAZ Alejandra, Uría Rosario; Buenas Prácticas de Manufactura: Una guía para pequeños y medianos agroempresarios. Internet. <http://www.iica.int/Esp/Programas/agronegocios/Publicaciones%20de%20Comercio%20Agronegocios%20e%20Inocuidad/buenas%20practicass%20manufactura.pdf>. Acceso 22/10/11.

12. DÍAZ Lorenzo Tamara, et al, Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Causas más frecuentes, Internet. <http://www.inha.sld.cu/Documentos/Etas.pdf>. Acceso 20/07/10.
13. EUROCONTROL alimentario, Manual De Manipulación De Alimentos E Higiene Alimentaria. España, Editorial Vigo, 2^{da} edición, 2004, Internet http://books.google.com.ec/books?id=oitBOhhkOyUC&pg=PA23&dq=MANUAL+DE++MANIPULACION+C3%93N+DE+ALIMENTOS+E+HIGIENE+ALIMENTARIA&hl=es&ei=zke7TqjOM4Lg0QGw97zfCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&sqi=2&ved=0CC4Q6AEwAA#v=onepage&q&f=false, Acceso 9/11/2011.
14. FELDMAN Paula, Santín Cecilia, Inocuidad de los Alimentos, Internet. http://www.alimentosargentinos.gov.ar/03/revistas/r_12/12_09_peligros.htm. Acceso 10/11/10
15. FSIS (*Food Safety and Inspection Service*), Guía de Inocuidad Alimentaria para Voluntarios, Internet. <http://www.fsis.usda.gov/oa/pubs/cfg/cfg2sp.htm>. Acceso 31/10/11.
16. FUSTER VALLSOBSERVATORI, “Los biofilms en la industria alimentaria”, Los microorganismos construyen estructuras biológicas en forma de finas capas sobre superficies de todo tipo que garantizan su supervivencia, (2 de junio de 2004) BARCELONA, 2004, Internet <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2004/06/02/12636.php>, Acceso 7/11/2011.
17. GARCIA Fajardo Isabel, Alimentos Seguros, España,. 2006. Internet. http://books.google.com.ec/books?id=e-yNiVfoJ2EC&pg=PA42&dq=contaminacion+cruzada&hl=es&ei=jbXhTP6DHMWqlAfTkaGtAw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=6&ved=0CEAQ6AEwBQ#v=onepage&q&f=false. Acceso: 13/07/10.
18. GRANDA Elena, Manual de Prácticas para Control Microbiológico en la Industria Alimenticia, 2010.
19. GONZALES Cabeza, Factores que afectan el crecimiento microbiano, Internet. http://www.gonzalezcabeza.com/documentos/CRECIMIENTO_MICROBIANO.pdf. Acceso 20/10/11
20. GONZÁLEZ Flores y Rojas Herrera Rafael Antonio (2005), Enfermedades transmitidas por alimentos y PCR: prevención y diagnóstico., Internet. http://www.scielosp.org/scielo.php?pid=S0036-36342005000500010&script=sci_arttext, Acceso 01/11/11.
21. GOTTAU Gabriela, Evita la contaminación cruzada en la cocina, 16 de agosto de 2009, Internet. <http://www.vitonica.com/prevencion/evita-la-contaminacion-cruzada-en-la-cocina>, Acceso 8/11/2011.
22. GUÍA TÉCNICA PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES EN CONTACTO CON ALIMENTOS Y BEBIDAS
Internet. http://www.peruhaciendocalidad.pe/Para%20la%20pagina/Legislacion%20Sanitaria/RM_461_2007%20SUPERFICIES.pdf. Acceso 10/11/10.
23. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (PANALIMENTOS), Enfermedades transmitidas por alimentos, Internet. <http://www.panalimentos.org/comunidad/educacion1.asp?id=67> Acceso 02/11/11.

24. Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (PANALIMENTOS), ¿Qué son las enfermedades transmitidas por alimentos?, Internet. http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa_calidad/ME%20%20ETA%20INPPAZ.pdf. Acceso 07/11/11.
25. IÑIGO Lasa Uzcudun, Laboratorio de Biofilms Microbianos, Navarra, Editorial Anales, 2009, Internet. <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol28/n2/colaba.html>, Acceso 7/11/2011
26. JAVERIANA. Internet . <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis205.pdf>. Acceso 09/08/10.
27. J.L., Kornacki J.L. & Johnson. ENTEROBACTERIACEAE, COLIFORMS, AND ESCHERICHIA COLI AS QUALITY AN SAFETY INDICATORS , 2001, pag.69-82. Internet. http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/tecnic-basicas-coliformes-en-placa_6528.pdf. Acceso 11/12/10.
28. LAMATA Cotanda Fernando y Bárcenas López Jesús, Requisitos Previos de higiene en Industrias Alimentarias de Castilla-La Mancha, Internet. <http://pagina.jccm.es/sanidad/salud/agroalimentaria/guiareq.pdf>. Acceso 02/11/11.
29. Leyva Virginia, et al, ¿Qué factores influyen en el crecimiento y supervivencia de los microorganismos en los alimentos?, Internet. <http://www.inha.sld.cu/Documentos/crecimiento.pdf> . Acceso 20/10/11
30. LURÁ María Cristina, Jiménez Susana María, Enfermedades Transmitidas por Alimentos:¿cómo prevenirse?. Internet. <http://noticias.universia.com.ar/enportada/noticia/2003/07/30/377958/enfermedades-transmitidas-alimentos-prevenirse.html>. Acceso 30 /08/10.
31. MONTIE Masís Ronald, Enfermedades Transmitidas por Alimentos en los servicios de alimentación al público, Internet. <http://www.monografias.com/trabajos-pdf/enfermedades-alimentos-servicios-alimentacion-publico/enfermedades-alimentos-servicios-alimentacion-publico> . Acceso 15/07/10.
32. NATARO JP y Kaper JB, Diarrheagenic Escherichia coli. Clinical Microbiology Reviews, 11:142–201., 1998. Internet. http://www.bvsde.paho.org/CDGDWQ/docs_microbiologicos/Bacterias%20PDF/Escherichia%20coli.pdf. Acceso 08/10/10.
33. NOBOA Bejarano Gustavo, Reglamento de Buenas Prácticas para alimentos procesados, 4 de Noviembre de 2002, Internet. <http://www.bioquimifarma.org/REGLAMENTOS%20DE%20BP%20PARA%20ALIMENTOS%20PROCESADOS.pdf>. Acceso 19/02/11
34. ORBERÁ Ratón Teresa de los Milagros, "Acción perjudicial de las levaduras sobre los alimentos", Rev Cubana Salud Pública 2004, 30(3),. Internet. http://bvs.sld.cu/revistas/spu/vol30_3_04/spu16304.htm. Acceso 28/08/10.
35. PASCUAL Anderson Ma. Del Rosario, Calderon y Pascual Vicente, Microbiología de Alimentaria Metodología Analítica para alimentos y bebidas, Madrid, segunda edición, 2000,. Internet. http://books.google.com.ec/books?id=9EIfkks8uxMC&printsec=frontcover&dq=microbiologia+de+alimentos&hl=es&ei=2afhTLTAJYGclgeXw7TnAw&sa=X&oi=book_result&ct=

result&resnum=1&ved=0CC0Q6AEwAA#v=onepage&q=microbiologia%20de%20alimentos&f=false. Acceso 13/08/10.

36. PELAYO Maite, “Desinfección de cuchillos en la industria cárnica”, Un innovador sistema de higienización de cuchillos en plantas industriales cárnicas asegura una limpieza total de este utensilio, 27 de enero de 2011, Internet. <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2011/01/27/198548.php>, Acceso 7/11/2011.

37. PELAYO Maite, “Requisitos y obligaciones del manipulador de alimentos”, El manipulador de alimentos, como agente activo en la cadena alimentaria, tiene un papel determinante en la seguridad y salubridad de los alimentos, 6 de marzo de 2008, Internet <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2008/03/06/175191.php>, Acceso 8/11/2011.

38. PELIGROS, HACCP: BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA Y ANÁLISIS DE BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE ALIMENTOS PARA GMP. Internet. https://americalatina.aibonline.org/.../Sp_BPMs_EC_Proposal_2009.pdf - .Acceso 30/12/10.

39. PÉREZ-Silva García M^a del Carmen, Belmonte Cortés Susana y Martínez Corral Javier, Estudio microbiológico de los alimentos elaborados en comedores colectivos de alto riesgo, Revista Española de Salud Pública v.72 n.1 Madrid Ene./Feb. 1998 : s.n. Internet. http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1135-57271998000100008 . Acceso 18/08/10.

40. PIERSON M. & Smoot L. Indicator microorganisms and microbiological criteria. in: food microbiology. fundamentals and frontiers, 2nd ed. Doyle M.Beuchat L. & Montville T. (Eds.) ASM Press. USA. 71-87 (2001).

41. PROGRAMA Calidad de los alimentos Argentinos, Buenas Prácticas de Manufactura, Internet. http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa_calidad/calidad/boletines/bolet_bpm.PDF. Acceso 02/11/11

42. QUIROGA Irene, Manipulación de Alimentos y Contaminación Cruzada. Internet. <http://www.docstoc.com/docs/22074940/MANIPULACION-DE-ALIMENTOS-Y-CONTAMINACION-CRUZADA>. Acceso 20/08/10.

43. REID Carolina et al 2003, Servicios de Comida: Guía de Buenas Prácticas de Manufactura, Internet. http://www.alimentosargentinos.gov.ar/programa_calidad/Guia_BPM_ServComidas_PPAL.pdf. Acceso 24/10/11.

44. REMBADO, Lorna Aluffi Oates / Mabel. Enfermedades Transmitidas por Alimentos-ETAS.12-10-2010.Internet. http://www.calidadalimentaria.net/que_son_las_etas.php. Acceso 04/12/10

45. REYES Pla, Limpieza y desinfección en la industria alimentaria, Internet. http://minnie.uab.es/~veteri/22958/neteja_desin.pdf., Acceso 02/11/11.

46. RODRÍGUEZ Cavallini Evelyn, Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio, editorial universitaria de Costa Rica, edición 2 da, 2006, Internet http://books.google.com.ec/books?id=vwB0fgirgN0C&pg=PA141&dq=PLACAS+PETRIFILM&hl=es&ei=GAO6TuLzJ8ygtwf_3fjPBw&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&sqi=2&ved=0CCoQ6AEwAA#v=onepage&q=PLACAS%20PETRIFILM&f=false, Acceso 9/11/2011.
47. SALGADO C., María Teresa, Castro R., Katherin, Importancia de las buenas prácticas de manufactura en cafeterías y restaurantes, Revista Vector, Volumen 2, 2007, págs 33 – 40, Internet. http://vector.ucaldas.edu.co/downloads/Vector2_4.pdf. Acceso 22/10/11.
48. SALOMÓN Jorge Alonzo, et al, " Coliformes fecales y mesofílicos aerobios en alimentos, superficies y manos del personal y niños de una guardería". Rev Biomed ,2006; 17:86-95, : s.n. Internet. <http://www.uady.mx/~biomedic/revbiomed/pdf/rb061721.pdf> .Acceso 15/08/10.
49. SÁNCHEZ Otero Julio, Introducción a la Estadística no Paramétrica y al Análisis Multivariado, Quito, ed. Innovación digital, 2010, pag 15-19.
50. SÁNCHEZ Otero Julio, Introducción a la Estadística en las Ciencias Biológicas, Quito, ed. Innovación digital, 2010, pag 100-103.
51. SECRETARÍA Distrital De Salud De Bogotá, Protocolos de Vigilancia en Salud Pública, Enfermedades transmitidas por alimentos .ETA. <http://190.25.230.149:8080/dspace/bitstream/123456789/506/1/enfermedades%20transmitidas%20por%20alimentos.pdf>., Acceso 05/11/11.
52. SENA, Procedimientos Programa de Sanitización, Internet. <http://es.scribd.com/doc/22174186/PROCEDIMIENTO-DE-SANITIZACION-AREAS-EQUIPOS-Y-UTENSILIOS>. Acceso 23 /02/11
53. SIMONA Ivana, et al (2009), Food microbial contamination - the main danger in the catering type food industry in Romania , Internet. <http://www.rombio.eu/rb12vol14/cnt/Lucr-7.pdf>., Acceso 20/03/11
54. STEVENS, M., N. Ashbolt & D. Cunliffe (2003). Recommendations to change the use of coliforms as Microbial indicators of drinking water quality. Department of Human Services, South Australia. Internet. http://www.nhmrc.gov.au/publications/synopses/_files/eh32.pdf. Acceso 05/11/11.
55. TANUS Agomeat Arturo, Cinco pasos críticos para la limpieza y sanitización de equipos Marzo 21, 2007 Internet, http://www.alimentariaonline.com/imprimir_notas.asp?did=3037 México, D.F. Acceso 19/02/11
56. URBANEJA Sixto, Determinación del índice de bacterias coliformes totales y fecales en muestras de alimentos y determinación del índice de estreptococo del grupo "D" en muestras de alimentos, Internet. <http://www.revistaciencias.com/publicaciones/EpZyy>. Acceso 2010-03-13.
57. ZELAYA Ventura Obdulio y Amador Saybe Raul Antonio (2001), MANUAL DE BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACION APLICADO A LA INDUSTRIA LACTEA, Internet. http://www2.medioambiente.gov.ar/ciplycs/documentos/archivos/Archivo_114.pdf. Acceso 21/11/10
58. 3M, Guía de interpretación Placas Petrifilm™ para el Recuento de Aerobios, E.coli/Coliformes Totales y Mohos y Levaduras, Internet http://www.distribucionesbiotecnologicas.com.mx/files/guia_petrifilm_aerobios.pdf ,

<http://es.scribd.com/doc/6655602/Placas-3M-Para-Coliformes-Totales-y-E> ,
<http://es.scribd.com/doc/6655611/Placas-3M-Para-Hongos-y-Levaduras-Instrucciones-de-Uso>
Acceso 9/11/2011.

59. 3M. Placas 3M™ Petrifilm™. Internet.

http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_WW/microbiology-worldwide/home/package-inserts/. Acceso 17/03/10.

ANEXOS

Anexo 1: Promedios de recuentos antes de la capacitación de Mesófilos, *E.coli*, Coliformes totales, Mohos y Levaduras.

PROMEDIOS DE RECuentOS ANTES DE LA CAPACITACIÓN						
Superficie	Código	Mesófilos UFC/20cm²	E.coli UFC/20cm²	Coliformes totales UFC/20cm²	Mohos UFC/20cm²	Levaduras UFC/20cm²
Mesa fija 1	MF1	20 x 10 ⁶	<10	4	30 x 10 ⁶	100
Mesa fija 2	MF2	10 x 10 ⁷	<10	90 x 10 ⁶	80 x 10 ⁶	20 x 10 ⁶
Mesa fija 3	MF3	20 x 10 ⁶	<10	1	20 x 10 ⁶	17
Mesa móvil 1	Mm1	8 x 10 ⁶	<10	1	20 x 10 ⁶	2
Mesa móvil 2	Mm2	8 x 10 ⁶	<10	80 x 10 ⁵	30 x 10 ⁶	2
Mesa móvil 3	Mm3	78	<10	8	20 x 10 ⁶	1
Cuchillo 1	C1	40 x 10 ⁶	<10	30 x 10 ⁶	80 x 10 ⁵	49
Cuchillo 2	C2	27	<10	2	1	2
Cuchillo 3	C3	207	<10	80 x 10 ⁵	20 x 10 ⁶	1
Cuchillo 4	C4	146	<10	20 x 10 ⁶	30 x 10 ⁶	19
Tabla roja 1	TR1	316	<10	41	2	12
Tabla roja 2	TR2	154	<10	23	2	6
Tabla amarilla 1	TA1	80 x 10 ⁵	<10	9	80 x 10 ⁵	4
Tabla amarilla 2	TA2	80 x 10 ⁵	<10	80 x 10 ⁵	4	5
Tabla blanca 1	TB1	20 x 10 ⁶	<10	13	1	2
Tabla blanca 2	TB2	80 x 10 ⁵	<10	80 x 10 ⁵	1	3
Tabla verde 1	TV1	80 x 10 ⁵	<10	80 x 10 ⁵	80 x 10 ⁵	12
Tabla verde 2	TV2	80 x 10 ⁵	<10	80 x 10 ⁵	20 x 10 ⁶	1

UFC: Unidades Formadoras de colonias

Anexo 2: Promedios de recuentos después de la capacitación de Mesófilos, *E.coli*, Coliformes totales, Mohos y Levaduras.

PROMEDIOS DE RECuentOS DESPUÉS DE LA CAPACITACIÓN						
Superficie	Código	Mesófilos UFC/20cm²	E.coli UFC/20cm²	Coliformes totales UFC/20cm²	Mohos UFC/20cm²	Levaduras UFC/20cm²
Mesa fija 1	MF1	40	0	0	0	11
Mesa fija 2	MF2	87	0	5	2	8
Mesa fija 3	MF3	0	0	0	0	1
Mesa móvil 1	Mm1	0	0	0	0	1
Mesa móvil 2	Mm2	26	0	0	5	1
Mesa móvil 3	Mm3	0	0	0	0	1
Cuchillo 1	C1	195	0	12	2	45
Cuchillo 2	C2	0	0	0	0	1
Cuchillo 3	C3	106	0	46	1	3
Cuchillo 4	C4	120	0	7	1	8
Tabla roja 1	TR1	137	0	54	1	56
Tabla roja 2	TR2	14	0	0	1	3
Tabla amarilla 1	TA1	0	0	0	0	1
Tabla amarilla 2	TA2	0	0	0	0	1
Tabla blanca 1	TB1	0	0	0	0	1
Tabla blanca 2	TB2	0	0	0	0	1
Tabla verde 1	TV1	0	0	0	0	1
Tabla verde 2	TV2	0	0	0	0	1

UFC: Unidades Formadoras de colonias

Anexo 3: Análisis estadístico de los indicadores de contaminación antes de la capacitación con la prueba de ANOVA de un factor.

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.(p)
MesoALog	Inter-grupos	511,473	17	30,087	9,628	,000
	Intra-grupos	618,756	198	3,125		
	Total	1130,229	215			
EColiALog	Inter-grupos	4,834	17	,284	8,262	,000
	Intra-grupos	6,815	198	,034		
	Total	11,650	215			
ColiTotAlog	Inter-grupos	615,021	17	36,178	11,954	,000
	Intra-grupos	599,212	198	3,026		
	Total	1214,234	215			
MohosAlog	Inter-grupos	424,670	17	24,981	4,269	,000
	Intra-grupos	1158,585	198	5,851		
	Total	1583,254	215			
LevadAlog	Inter-grupos	27,916	17	1,642	1,981	,014
	Intra-grupos	164,109	198	,829		
	Total	192,025	215			

Anexo 4: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para Mesófilos

MesoALog

HSD de Tukey^a

Superficie	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Cuchillo 2	12	,9311		
Cuchillo 4	12	1,6029		
Mesa Móvil 3	12	1,6184		
Tabla Roja 2	12	1,6640		
Tabla Amarilla 2	12	1,8581		
Cuchillo 3	12	1,8897		
Tabla Blanca 2	12	2,0372		
Tabla Amarilla 1	12	2,1066		
Tabla Roja 1	12	2,1178		
Tabla Verde 2	12	2,1553		
Tabla verde 1	12	2,1775		
Mesa Móvil 1	12	2,3040		
Mesa Móvil 2	12	2,3955	2,3955	
Tabla Blanca 1	12	2,4374	2,4374	
Mesa Fija 3	12	2,5577	2,5577	
Mesa Fija 1	12	2,9348	2,9348	
Cuchillo 1	12		4,9271	
Mesa Fija 2	12			8,0000
Sig.		,337	,054	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12,000.

Anexo 5: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para *E.coli*

EColiALog

HSD de Tukey^a

Superficie	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Mesa Fija 1	12	,0000	
Mesa Fija 2	12	,0000	
Mesa Fija 3	12	,0000	
Mesa Móvil 1	12	,0000	
Mesa Móvil 2	12	,0000	
Mesa Móvil 3	12	,0000	
Cuchillo 2	12	,0000	
Cuchillo 3	12	,0000	
Cuchillo 4	12	,0000	
Tabla Roja 2	12	,0000	
Tabla Amarilla 1	12	,0000	
Tabla Amarilla 2	12	,0000	
Tabla Blanca 1	12	,0000	
Tabla Blanca 2	12	,0000	
Tabla verde 1	12	,0000	
Tabla Verde 2	12	,0000	
Tabla Roja 1	12	,2144	
Cuchillo 1	12		,6297
Sig.		,303	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12,000.

Anexo 6: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para Coliformes Totales

ColiTotAlog

HSD de Tukey^a

Superficie	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Mesa Móvil 1	12	,1287		
Cuchillo 2	12	,1695		
Tabla Amarilla 1	12	,1925		
Mesa Fija 3	12	,2130		
Mesa Fija 1	12	,2636		
Tabla Blanca 1	12	,4369		
Mesa Móvil 3	12	,4592		
Tabla Roja 2	12	,5144		
Tabla Amarilla 2	12	,8110	,8110	
Mesa Móvil 2	12	,9365	,9365	
Tabla Blanca 2	12	,9618	,9618	
Tabla verde 1	12	,9927	,9927	
Tabla Verde 2	12	1,0706	1,0706	
Tabla Roja 1	12	1,1987	1,1987	
Cuchillo 3	12	1,5168	1,5168	
Cuchillo 4	12	1,8619	1,8619	
Cuchillo 1	12		3,2718	
Mesa Fija 2	12			7,4809
Sig.		,578	,062	1,000

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12,000.

Anexo 7: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para Mohos

MohosAlog

HSD de Tukey^a

Superficie	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Tabla Blanca 2	12	,2234	
Tabla Blanca 1	12	,2736	
Cuchillo 2	12	,2845	
Tabla Roja 2	12	,3408	
Tabla Roja 1	12	,3974	
Tabla Amarilla 2	12	,4196	
Cuchillo 1	12	,9734	
Tabla Amarilla 1	12	1,1832	
Tabla verde 1	12	1,3435	
Tabla Verde 2	12	1,6135	
Cuchillo 3	12	1,6571	
Mesa Fija 3	12	1,6652	
Mesa Móvil 3	12	1,9154	
Mesa Móvil 1	12	2,0390	
Cuchillo 4	12	2,3972	
Mesa Fija 1	12	2,5111	
Mesa Móvil 2	12	3,1955	3,1955
Mesa Fija 2	12		6,1430
Sig.		,206	,218

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12,000.

Anexo 8: Pruebas de significación de Tukey 0.05 (post hoc) para Levaduras

LevadAlog

HSD de Tukey^a

Superficie	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Mesa Móvil 3	12	,0795	
Cuchillo 3	12	,1254	,1254
Tabla Verde 2	12	,1903	,1903
Cuchillo 2	12	,2600	,2600
Mesa Móvil 2	12	,2779	,2779
Tabla Blanca 1	12	,3200	,3200
Mesa Móvil 1	12	,3257	,3257
Tabla Blanca 2	12	,3607	,3607
Tabla Amarilla 1	12	,4062	,4062
Tabla Amarilla 2	12	,4084	,4084
Tabla Roja 2	12	,4155	,4155
Tabla verde 1	12	,5298	,5298
Cuchillo 4	12	,5506	,5506
Mesa Fija 3	12	,6004	,6004
Tabla Roja 1	12	,7006	,7006
Cuchillo 1	12	1,0236	1,0236
Mesa Fija 1	12	1,2537	1,2537
Mesa Fija 2	12		1,3982
Sig.		,144	,070

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 12,000.

Anexo 9: Análisis general de contaminación de superficies antes vs después aplicando la Prueba de T Student para muestras relacionadas.

Prueba de muestras relacionadas

	Diferencias relacionadas					t	gl	Sig. (p) (bilateral)
	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media	95% Intervalo de confianza para la diferencia				
				Inferior	Superior			
Par MesoAlog - 1 MesoDlog	1,86636	2,23177	,15185	1,56705	2,16568	12,291	215	,000
Par EColiAlog - 2 EColiDlog	,04468	,23547	,01602	,01310	,07626	2,789	215	,006
Par ColiTotAlog - 3 ColiTotDlog	1,00643	2,33652	,15898	,69307	1,31979	6,331	215	,000
Par MohosAlog - 4 MohosDlog	1,47922	2,69449	,18334	1,11785	1,84058	8,068	215	,000
Par LevadAlog - 5 LevadDlog	,22695	,97466	,06632	,09624	,35766	3,422	215	,001

Anexo10. Insertos de las placas Petrifilm

3M Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento de Aerobios Totales

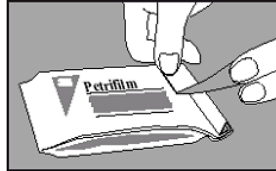
Recomendaciones de uso

Para detallar información sobre PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTIA / GARANTIA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACION, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

ALMACENAMIENTO



1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura $\leq 8^{\circ}\text{C}$ (46°F). Las placas deben usarse antes de su fecha de expiración. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se temperen a la temperatura del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm^{MR} tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración, observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.

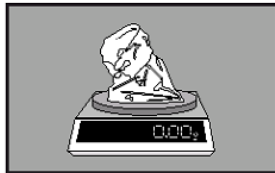


2 Para cerrar un paquete abierto, doble el envoltorio y colóquelo una cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y por lo tanto alteración de las placas.

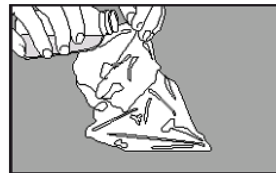


3 Mantenga los paquetes cerrados (según se indica en el punto 2) a temperaturas $\leq 25^{\circ}\text{C}$ (77°F) y una humedad relativa $\leq 50\%$. No refrigere los paquetes que ya han sido abiertos. Utilice las placas Petrifilm^{MR} máximo 1 mes después de abierto el paquete. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, una vez cerrados (según punto 2) colóquelo en un contenedor sellable (tipo funda con cierre) y almacénelo en congelación, para usar las placas saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde en las mismas condiciones antes descritas.

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

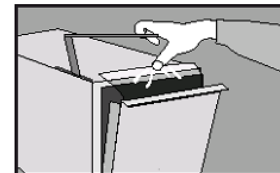


4 Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipetee la muestra en una funda o bolsa de Stomacher, botella de dilución o cualquier otro contenedor estéril usual.



5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón Butterfield (tampón IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH_2PO_4 y con pH ajustado a 7.2), agua de peptona al 0.1%, diluyente de sal peptonada (método ISO 6887), Buffer de agua de peptona (método ISO 6579), solución salina (0.85 a 0.90%), caldo letheen libre de bisulfato o agua destilada.

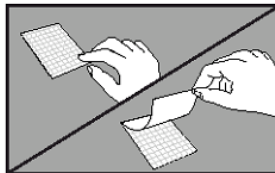
No utilice buffer que contengan citrato, bisulfito o tosulfato de sodio, por que pueden inhibir el crecimiento.



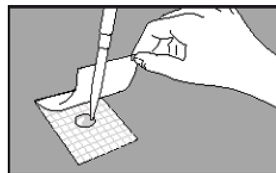
6 Mezcle u homogenice la muestra mediante los métodos usuales.

Ajuste el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:
Para productos ácidos: use solución 1N de Na OH
Para productos básicos: use solución 1N de HCl

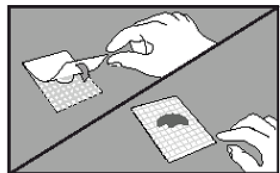
INOCULACIÓN



7 Coloque la Placa Petrifilm^{MR} en una superficie plana y nivelada. Levante la lámina semitransparente superior.



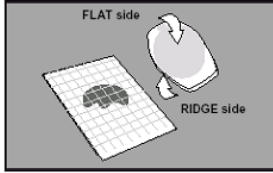
8 Con la pipeta perpendicular a la Placa Petrifilm^{MR} coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.



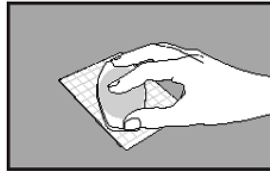
9 Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo.

3M Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento de Aerobios Totales

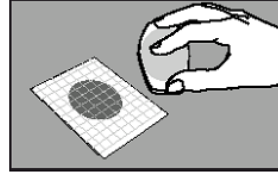
Recomendaciones de uso



10 Con el lado bordeado hacia abajo coloque el dispensador o esparcidor sobre la película superior, como atrapando el inóculo.



11 Presione suavemente el dispensador o esparcidor para distribuir el inóculo sobre el área circular. No gire, ni deslice el dispensador. Recuerde distribuir el inóculo antes de inocular una siguiente placa.



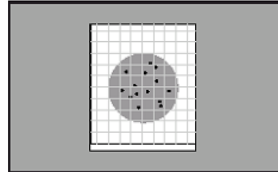
12 Levante el dispensador o esparcidor. Espere por lo menos 1 minuto a que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

INCUBACIÓN

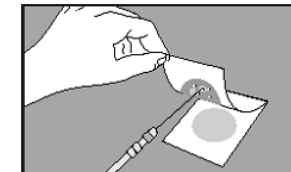


13 Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades de altura. Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

INTERPRETACIÓN



14 Las placas Petrifilm^{MR} pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo lupa con luz. Referirse a la Guía de Interpretación para leer los resultados.



15 Las colonias pueden ser aisladas para identificación posterior. Levante el film superior y repicar la colonia del gel.

El tiempo de incubación y la temperatura varían según el método. Los métodos comúnmente aprobados son:

- **AOAC método oficial 986.33**
(leche y productos lácteos)
Incubar 48 hrs. (+/- 3 hrs) a 32°C (+/- 1°C)
- **AOAC método oficial 990.12**
Incubar 48 hrs. (+/- 3 hrs) a 32°C (+/- 1°C)
- **AFNOR método validado 3M 01/1-09/89**
Incubar 72 hrs. (+/- 3 hrs) a 30°C
- **Método MNKL 146.1993**
Incubar 72 hrs. (+/- 3 hrs) a 30°C

3M Microbiology
3M center, Bldg. 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000
USA
1800-228-3957
microbiology@mmm.com
www.3M.com/microbiology

Comentarios Adicionales:

* Si tiene preguntas llame al 1-651-733-7562 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted

Petrifilm es una marca registrada de 3M
Impreso en:
Revisión: 2003-04
Referencia: 70-2008-8102-0
© 3M

Inserto para el recuento de *E.coli* y Coliformes Totales

3M™ Petrifilm™

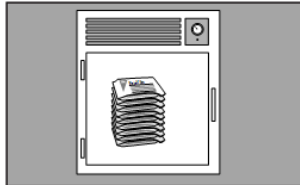
Placas para Recuento de *E. coli* y Coliformes

Para Advertencias, Precauciones, Responsabilidad del Usuario, Garantía Limitada, Almacenamiento y Eliminación, e Instrucciones de Uso, ver el folleto del producto.

Instrucciones
de uso



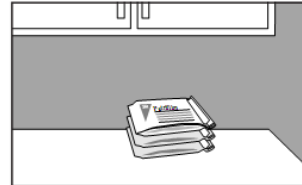
Almacenamiento



1 **Conservar** las bolsas cerradas a $\leq 8^{\circ}\text{C}$. Usar antes de la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

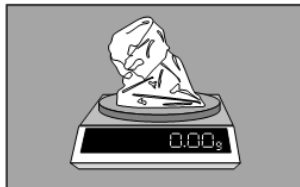


2 Para cerrar las bolsas que se están utilizando, doblar los extremos y cerrarlos con celo.

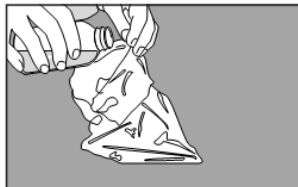


3 Mantener las bolsas una vez cerradas a $\leq 25^{\circ}\text{C}$, a HR $< 50\%$. **No refrigerar las bolsas abiertas.** Usar las placas Petrifilm en un mes desde su apertura.

Preparación



4 Pesar o pipetear el producto alimenticio en un contenedor estéril adecuado, como una bolsa Stomacher, frasco de dilución, bolsa Whirl-Pak®, o cualquier otro contenedor estéril.



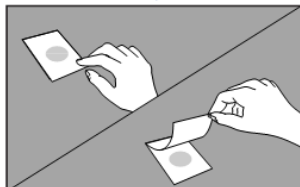
5 Añadir una cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: tampón fosfato de Butterfield (tampón fosfato IDF, KH_2PO_4 a 0.0425g/l, ajustar pH a 7.2), agua peptonada al 0.1%, peptona sal (método ISO 6887), solución salina (0.85 - 0.90%) o agua destilada.

No usar tampones que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato.
Ajustar el pH de la muestra diluida entre 6.6 y 7.2:
• para productos ácidos, usar NaOH 1N,
• para productos alcalinos, usar HCl 1N.

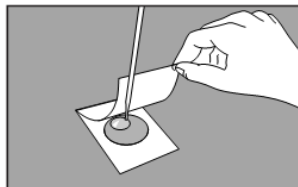


6 Mezclar u homogeneizar la muestra mediante los métodos habituales.

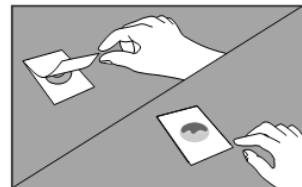
Inoculación



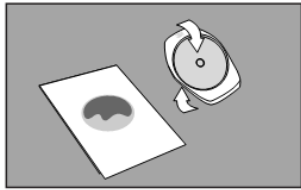
7 Colocar la placa Petrifilm en una superficie **plana**. Levantar el film superior.



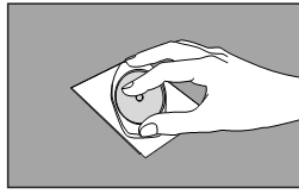
8 Con una pipeta colocada de forma **perpendicular** a la placa Petrifilm, colocar 1 ml. de la muestra en el centro del film inferior.



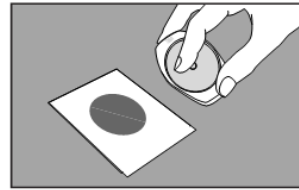
9 Bajar el film superior **con cuidado** evitando introducir burbujas de aire. **No dejarlo caer.**



10 Con la cara **lisa** hacia abajo, colocar el aplicador en el film superior sobre el inóculo.

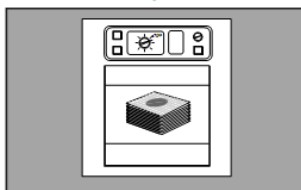


11 **Con cuidado**, ejercer una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No girar ni deslizar el aplicador.



12 Levantar el aplicador. Esperar un minuto a que solidifique el gel.

Incubación



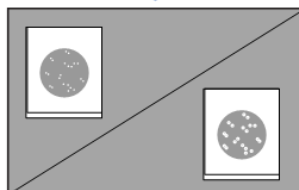
13 Incubar las placas cara arriba en pilas de hasta 20 placas. El tiempo e incubación varía según el método*.

Métodos aprobados más usuales :

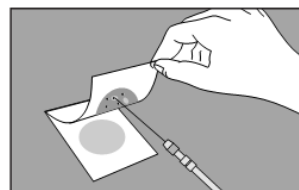
- Método Oficial AOAC 991.14 : para coliformes, incubar 24h ± 2h a 35°C ± 1°C ; para E.coli, incubar 48h ± 2h a 35°C ± 1°C
- Método Oficial AOAC 998.08: para E. coli en carnes, aves y mariscos, y Coliformes en todos los alimentos, incubar 24 h +/- 2 h a 35°C +/- 1°C.
- Método NMKL 147.1993 : Para Coliformes, incubar 24h ± 2h a 37°C ± 1°C ; para E.coli, incubar 48h ± 2h a 37°C ± 1°C.

* Ver el folleto del producto.

Interpretación



14 Las placas Petrifilm pueden leerse con un contador de colonias standard u otra lente de aumento. Para leer los resultados, consultar la Guía de Interpretación.



15 Las colonias pueden aislarse para una posterior identificación. Levantar el film superior y seleccionar la colonia del gel.

Comentarios adicionales

- Recordar inocular y repartir el inóculo en cada placa Petrifilm antes de pasar a la siguiente placa.
- El tiempo y temperatura de incubación puede variar según el método utilizado, ver el folleto del producto.

Referencia de documento

Fecha	Versión
Marzo 2002	1.0

3M

Departamento de Microbiología
3M Espana, S.A.

Juan Ignacio Luca de Tena, 19-25
28027 Madrid
Tel : 91 321 6246



3M y Petrifilm son marcas registradas de 3M Company.
Whirl-Pak es una marca registrada de Nasco

FP 10011037 - Marzo 2002

Inserto para recuento de Mohos y Levaduras.

3M Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras Recomendaciones de uso

Para información detallada acerca de ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, COMPENSACIONES POR GARANTÍA / GARANTÍA LIMITADA, LIMITACIONES POR RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y ELIMINACIÓN, e INSTRUCCIONES DE USO, remítase al inserto de producto en el paquete.

Almacenamiento



1 Almacene los paquetes cerrados a una temperatura $\leq 8^{\circ}\text{C}$ (46°F). Las placas deben usarse antes de su fecha de caducidad. En áreas de alta humedad, donde la condensación puede ser un inconveniente, es recomendable que los paquetes se atemperen al ambiente del lugar de trabajo antes de abrirlos. Las Placas Petrifilm tienen un tiempo de vida útil de 18 meses desde su fecha de elaboración. Observe la fecha de caducidad en la parte superior de la placa.



2 Para cerrar un paquete abierto, doble el sobre y séllelo con cinta adhesiva para evitar el ingreso de humedad y, por lo tanto, la alteración de las placas. Utilice las Placas Petrifilm máximo 1 mes después de abierto el paquete.

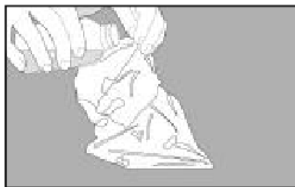


3 Mantenga los paquetes cerrados a temperaturas $\leq 25^{\circ}\text{C}$ (77°F) y una humedad relativa $\leq 50\%$. No refrigere los paquetes que ya hayan sido abiertos. Para almacenamiento prolongado de paquetes abiertos, colóquelos en un contenedor hermético (tipo funda con cierre) y guárdelos en congelación. Para usar las placas, saque el paquete del congelador, retire el número de placas necesarias y guarde el resto en las mismas condiciones antes de ser usadas hasta su fecha de caducidad.

Preparación de la muestra



4 Prepare al menos una dilución de 1:10 de la muestra. Pese o pipete la muestra dentro de un contenedor estéril, como una bolsa homogeneizadora, frasco de dilución u otro recipiente estéril.



5 Adicione la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: buffer Butterfield (buffer IDF fosfato, 0.0425 g/L de KH_2PO_4 y con pH ajustado a 7.2), agua de peptona al 0.1%, diluyente de sal peptonada (método ISO 6887), agua peptonada bufferada (método ISO 6579), solución salina (0.85 a 0.90%), caldo Lethen libre de bisulfato o agua destilada.

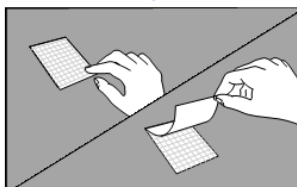


6 Mezcle u homogeneice la muestra mediante los métodos usuales.

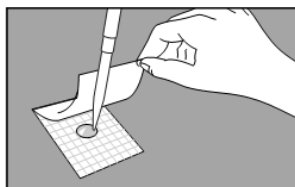
Las muestras o diluciones no requieren ajuste de pH. Sin embargo, si este proceso ya ha sido realizado puede igual usarlas en la Placa Petrifilm YM.

No utilice buffers que contengan citrato, bisulfito o tiosulfato de sodio, porque pueden inhibir el crecimiento. Si se encuentra especificada la utilización de buffer de citrato, sustitúyalo con cualquiera de los diluyentes citados arriba y caliéntelo hasta 45°C .

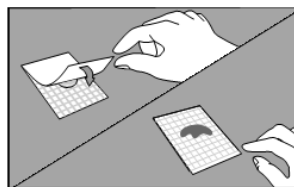
Inoculación



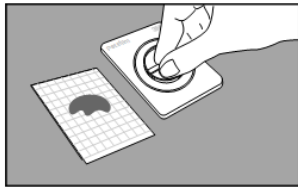
7 Coloque la Placa Petrifilm en una superficie plana y nivelada. Levante la película superior.



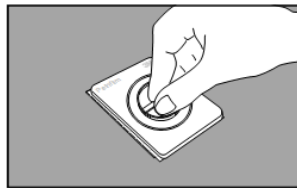
8 Con el Pipeteador Electrónico de 3M™ o cualquier dispositivo similar, coloque 1 mL de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior.



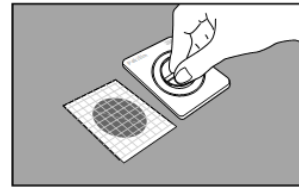
9 Libere la película superior dejando que caiga sobre la muestra.



10 Sosteniendo la barra cruzada del dispersor para Mohos y Levaduras, colóquelo sobre la película superior, cubriendo totalmente la muestra.

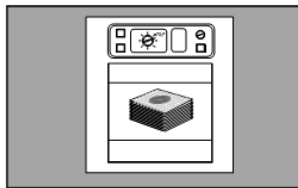


11 Presiona suavemente el dispersor para distribuir la muestra. No gire ni deslice el dispersor.



12 Levante el dispersor. Espere por lo menos 1 minuto para permitir que se solidifique el gel y proceda a la incubación.

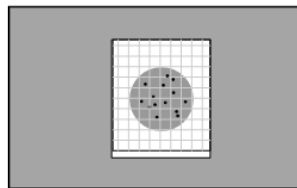
Incubación



13 Incube las placas cara arriba en grupos de hasta 20 unidades a 20 °C-25 °C por 3-5 días. Algunos Mohos pueden crecer rápidamente, por lo que puede ser útil leer y contar las placas a los 3 días, ya que las colonias más pequeñas se verán más oscuras que los Mohos ya crecidos a los 5 días. Si las Placas presentan demasiado crecimiento al día 5, registre el resultado obtenido al día 3 como "estimado". Puede ser necesario humectar el ambiente de la incubadora con un pequeño recipiente con agua estéril, para minimizar la pérdida de humedad.

El tiempo de incubación y las temperaturas varía según el método.
El método más conocido es:
• AOAC Método oficial 997.02 (en alimentos)
Incubar 5 días entre 21 °C y 25 °C.

Interpretación



14 Las placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar o con una fuente de luz amplificada.

Comentarios adicionales

Si tiene dudas o preguntas llame al (5255) 5270 0454 o al Representante de Ventas 3M más cercano a usted.

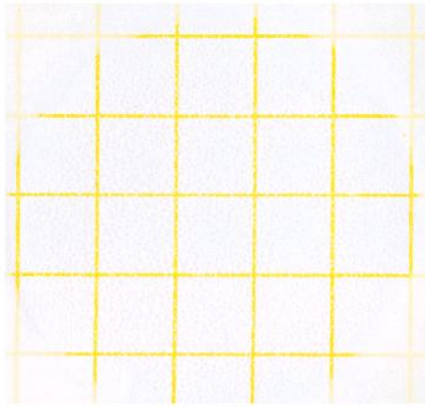
Fuente: Placas 3M™ Petrifilm™. Internet.

http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_WW/microbiology-worldwide/home/package-inserts/. Acceso 17/03/10.

Anexo11. Características de las colonias de Mésofilos Aerobios

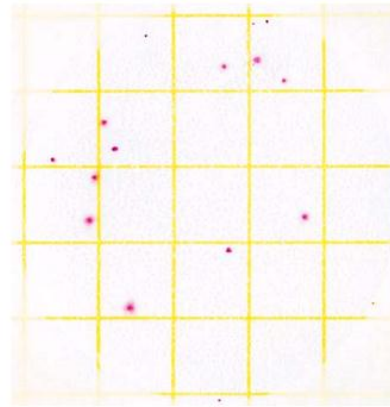
3M Placas Petrifilm^{MR} para el Recuento de Aerobios Totales

Guía de interpretación



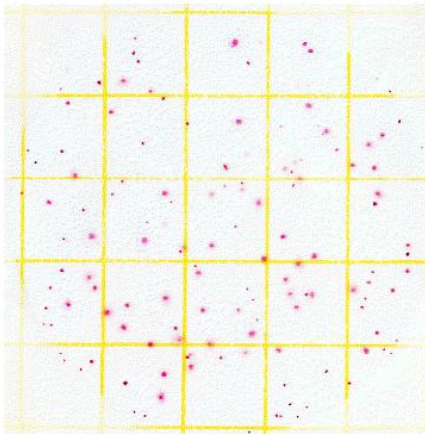
Conteo de Bacterias Aerobias = 0

La Placa Petrifilm^{MR} para Recuento de Aerobios Totales es de fácil interpretación. La figura 2 muestra una Placa Petrifilm^{MR} AC sin crecimiento de colonias.



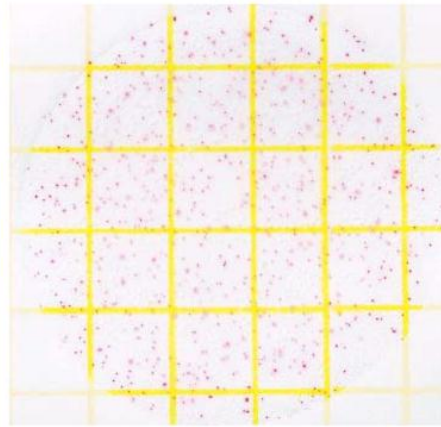
Conteo de Bacterias Aerobias = 16

La figura 3 muestra una Placa Petrifilm^{MR} AC con crecimiento bajo de colonias.



Conteo de Bacterias Aerobias = 143

El rango recomendado de conteo en la Placa Petrifilm^{MR} AC esta entre 25 – 250 colonias. Obsérvese la figura 4



Conteo de Bacterias Aerobias = 560 "estimado"

Cuando el numero de colonias es mayor a 250, como se puede observar en la figura 5 por su excesivo crecimiento, los conteos deben ser estimados. Determine el promedio de colonias en 1 cuadrado (cm²) y multipliquelo por 20 para obtener el conteo total por placa. El área de inoculación de Petrifilm^{MR} AC es 20 cm².

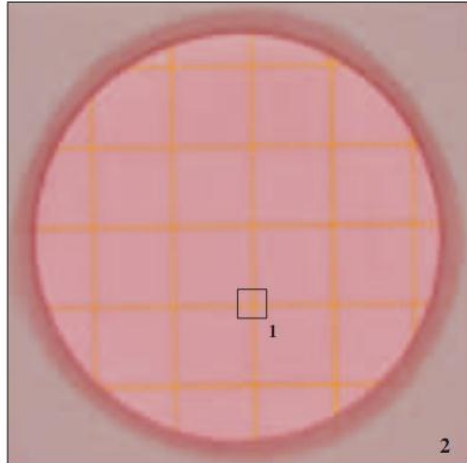
Fuente: Placas 3MTM PetrifilmTM. Internet.

http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_WW/microbiology-worldwide/home/package-inserts/. Acceso 17/03/10.

Anexo12. Características de las colonias de *E.coli* y Coliformes totales

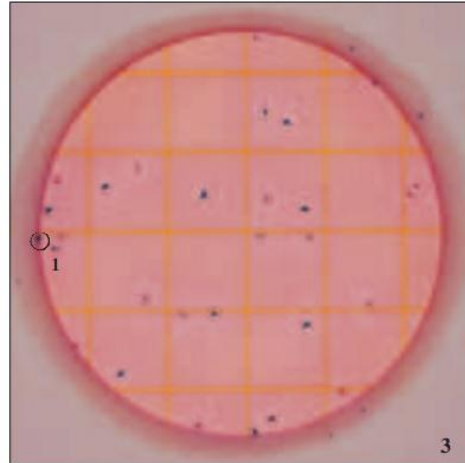
Placas 3M Petrifilm para Recuento de *E. coli* y Coliformes

Observar el cambio de color del gel en las figuras 2 a 8. Al incrementar el recuento de *E. coli* y Coliformes, el color del gel se vuelve rojo oscuro o azul-púrpura.



No crecimiento
Recuento de *E. coli* = 0

Las burbujas de fondo son una característica del gel y no resultado del crecimiento de *E. coli* o Coliformes. Las burbujas de fondo son pequeñas o puntiformes, de forma regular y no tienen una colonia asociada. Ver Recuadro 1.



Recuento de *E. coli* = 13
Recuento de Coliformes productores de gas = 28

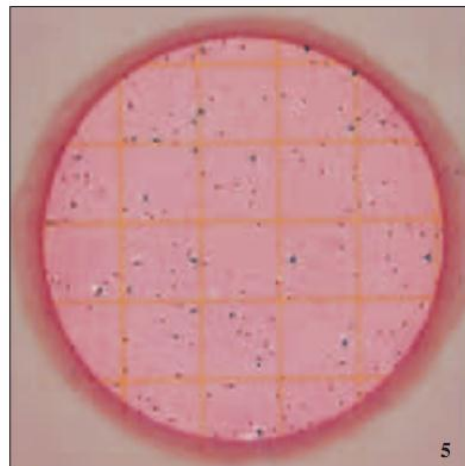
Al igual que las placas de Agar VRB, el intervalo óptimo de recuento (colonias totales) en las placas Petrifilm EC es 15-150. No contar las colonias que aparecen sobre la zona blanca ya que no están bajo la influencia selectiva del medio. Ver Círculo 1.



Recuento *E. coli* = 3

Toda coloración azul presente en una colonia (azul a rojo-azul) indica la presencia de *E. coli*. Utilizando una iluminación frontal puede facilitar la visualización del precipitado azul formado por una colonia.

- El Círculo 1 muestra una colonia rojo-azul usando una iluminación de fondo
- El Círculo 2 muestra la misma colonia con iluminación frontal. El precipitado azul en este caso se visualiza mejor.



Recuento *E. coli* = 20

Recuento total estimado = 150

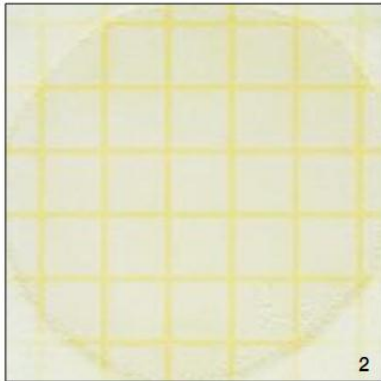
El área de crecimiento circular de la placa Petrifilm EC es de aproximadamente 20 cm². Se pueden hacer estimaciones en placas con más de 150 colonias contando el número de colonias en uno o varios cuadrados representativos y obteniendo el promedio. Multiplicar dicho número por 20 para obtener el recuento total por placa.

Fuente: Placas 3M™ Petrifilm™. Internet.

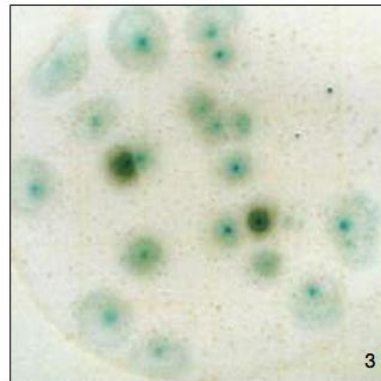
http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_WW/microbiology-worldwide/home/package-inserts/. Acceso 17/03/10.

Anexo13. Características de las colonias de Mohos y Levaduras

3M™ Placas Petrifilm™ para el Recuento de Mohos y Levaduras YM

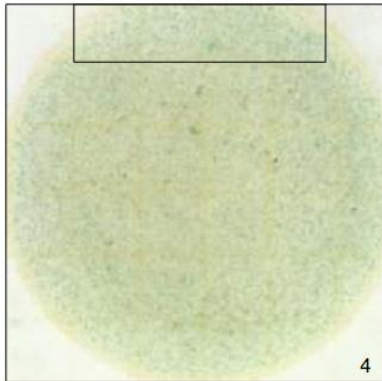


Conteo de Mohos y Levaduras = 0
En la Figura 2 se muestra una Placa Petrifilm YM sin crecimiento de Mohos ni Levaduras.

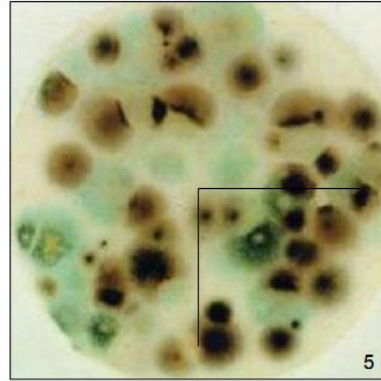


Conteo estimado total = 500
Conteo estimado de Levaduras = 480 /
Conteo de Mohos = 21

Cuando el número de colonias es mayor a 150, el recuento deben ser estimado. Determine el promedio de colonias en 1 cuadrado de la placa (1 cm²) y multiplíquelo por 30 para obtener el conteo total por placa. El área de inoculación de Petrifilm YM es de 30 cm². Las colonias de levaduras pueden tomar diversos tonos, desde color beige (como se ve en esta foto) hasta rosa, o color azul verdoso.



Conteo de Levaduras = MNPC
Conteo estimado de Levaduras >10⁴
La Figura 4 corresponde a una Placa Petrifilm YM que es muy numerosa para contar (MNPC). Las colonias azules pequeñas (resaltadas en el recuadro) del borde del área de crecimiento se encuentran presentes a través de toda la placa, pero menos visibles.



Conteo estimado de Mohos = 64
Las colonias de Mohos de la Figura 5 están empezando a unirse y sobreponerse una encima de otra en la placa. Cuente cada margen de colonia o enfoque. La placa se puede dividir en secciones para facilitar el conteo. En este ejemplo aproximadamente 1/4 de la placa se ha contado, luego se multiplicó este valor por 4, para obtener el recuento estimado de esta placa. La sección dividida contiene 16 Mohos.

Fuente: Placas 3M™ Petrifilm™. Internet.

http://solutions.3m.com/wps/portal/3M/en_WW/microbiology-worldwide/home/package-inserts/. Acceso 17/03/10.

Anexo 14. Registro de temperatura de Incubadora

Registro de control de temperatura de Incubadora		
Laboratorio de Docencia de microbiología N°2		
Temperatura Máxima: 35°C		
Temperatura Mínima: 30°C		
Temperatura (°C)	Fecha	Firma de Responsables
33	21/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	22/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	23/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	24/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	27/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
34	28/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	29/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	30/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
32	01/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
32	04/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	05/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	06/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	07/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	08/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	08/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	09/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
32	10/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	11/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
34	12/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	15/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	16/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	17/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	18/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	19/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	22/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	23/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
32	24/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	25/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
33	26/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel

Anexo 15. Registro de temperatura de la refrigeradora

Registro de control de temperatura de la refrigeradora		
Laboratorio de Microbiología Clínica Temperatura Máxima: 5°C Temperatura Mínima: 0°C		
Temperatura (°C)	Fecha	Firma de Responsables
2	21/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	22/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	23/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	24/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	27/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	28/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	29/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
3	30/06/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	01/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	04/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	05/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	06/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	07/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	08/07/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	08/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	09/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	10/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	11/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	12/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
3	15/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	16/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
3	17/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	18/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
3	19/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	22/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
3	23/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
3	24/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	25/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel
2	26/08/11	Gabriela Vargas / Maribel Peñafiel

Anexo 16. Calibración de pipetas



Verificación/Calibración de material volumétrico

INFORME DE CALIBRACION

Fecha cálculos: 16/06/2011 Fecha ensayo: 10/06/2011
 Procedimiento: PC-DIS-MAA-02
 Temperatura Agua °C: 20
 Temperatura ambiental °C: 18,9 Humedad Ambiental %: 50
 Pipeta Automática (rango): 0,1-1 ml 0,1-1 ml
 Eq-DIS-#: 1 (44426) 2 (44450)
 Setting ml: 1 1

Peso agua (g)	1	2
1	1,010	1,005
2	1,003	1,005
3	1,004	1,001
4	1,002	1,005
5	1,006	1,006
6	1,005	1,009
7	1,003	1,008
8	1,006	0,999
9	1,004	1,000
10	1,005	1,003
Media	1,005	1,004
Desviación Estándar	0,0023	0,0033
Factor Z	1,002839	1,002839
V20°C (ml)	1,008	1,007
Volumen Nominal (ml)	1,0	1
Error obtenido (%)	0,77	0,70
Tolerancia % Error	2,0	2,0
Presición CV (%)	0,22	0,33
U V20°C ml (k = 2)	0,005	0,007
U%	0,53	0,72

SI CUMPLE ✓ SI CUMPLE ✓

Tabla valor Z

Temp	Conv Factor
10	1,001438
11	1,001523
12	1,001622
13	1,001733
14	1,001855
15	1,001990
16	1,002138
17	1,002296
18	1,002466
19	1,002648
20	1,002839
21	1,003043
22	1,003255
23	1,003479
24	1,003712
25	1,003955
26	1,004209
27	1,004472
28	1,004744
29	1,005025
30	1,005316

Aprobado por

Responsable de Area-MAA

FDIS-55-Ed.01

Verificación/Calibración de material volumétrico
CALCULO DE INCERTIDUMBRE DE MATERIAL VOLUMETRICO

CALIBRACION PIPETA DE: 1 mL Eq-DIS-# 1 (44426)

Tem Amb °C= 19

1.- DEFINIR LA FUNCIÓN:

$$V_{20^{\circ}C} = M_A + Z$$

MA	1,0048 g
Z	1,002839

V20°C = 1,01

2. APLICAR LEY DE LA PROPAGACIÓN:

$$u(V_{20^{\circ}C}) = V_{20^{\circ}C} \cdot \sqrt{\left(\frac{uM_A}{M_A}\right)^2 + \left(\frac{uZ}{Z}\right)^2}$$

2.1. EVALUAR CADA CONTRIBUCIÓN:

ucalbalanza	0,0012 g
uresbalanza	0,0006 g
urep	0,0023 g

$$uM_A = \sqrt{ucal^2 + ures^2 + urep^2} = 0,00262$$

$$uZ = \frac{\text{maxdifZ}}{\sqrt{3}} = 0,00046$$

Z a la temp medida = 1,002548
 Z Mínimo = 1,00247
 Z Máximo = 1,00326

Considerando una variación de temperatura en la calibración de +/- 2°C

3. CALCULAR LA INCERTIDUMBRE COMBINADA:

$$u(V_{20^{\circ}C}) = V_{20^{\circ}C} \cdot \sqrt{\left(\frac{uM_A}{M_A}\right)^2 + \left(\frac{uZ}{Z}\right)^2} = 0,0027$$

4. DETERMINAR EL FACTOR DE COBERTURA:

K = 2

5. CALCULAR LA INCERTUDUMBRE EXPANDIDA:

$$UV_{(20)} = uV_{(20)} \cdot K = 0,005$$

$$\%U = 0,53$$

Tolerancia % 2,00
 Error calib % 0,77
 U (k=2) % 0,53

Error calib% + U% < Tolencia% **SI CUMPLE** ✓

Fecha cálculos: 16/06/2011

TABLA : Valores de Z en función de la temperatura y presión.

Temp	Conv Factor
10	1,001438
11	1,001523
12	1,001622
13	1,001733
14	1,001855
15	1,001990
16	1,002138
17	1,002296
18	1,002466
19	1,002648
20	1,002839
21	1,003043
22	1,003255
23	1,003479
24	1,003712
25	1,003955
26	1,004209
27	1,004472
28	1,004744
29	1,005025
30	1,005316

Verificación/Calibración de material volumétrico
CALCULO DE INCERTIDUMBRE DE MATERIAL VOLUMETRICO

CALIBRACION PIPETA DE: 1 mL Eq-DIS-# 2 (44450)

Tem Amb °C= 19

1.- DEFINIR LA FUNCIÓN:

$$V_{20^{\circ}C} = M_A \cdot Z$$

MA	1,0041 g
Z	1,002839

V20°C = 1,01

2. APLICAR LEY DE LA PROPAGACIÓN:

$$u(V_{20^{\circ}C}) = V_{20^{\circ}C} \cdot \sqrt{\left(\frac{uM_A}{M_A}\right)^2 + \left(\frac{uZ}{Z}\right)^2}$$

2.1. EVALUAR CADA CONTRIBUCIÓN:

ucalbalanza 0,0012 g
 uresbalanza 0,0006 g
 urep 0,0033 g

$$uM_A = \sqrt{ucal^2 + ures^2 + urep^2} = 0,00357$$

$$uZ = \frac{\text{max dif Z}}{\sqrt{3}} = 0,00046$$

Z a la temp medida = 1,002648
 Z Mínimo = 1,00247
 Z Máximo = 1,00326

Considerando una variación de temperatura en la calibración de +/- 2°C

3. CALCULAR LA INCERTIDUMBRE COMBINADA:

$$u(V_{20^{\circ}C}) = V_{20^{\circ}C} \cdot \sqrt{\left(\frac{uM_A}{M_A}\right)^2 + \left(\frac{uZ}{Z}\right)^2} = 0,0036$$

4. DETERMINAR EL FACTOR DE COBERTURA:

K = 2

TABLA : Valores de Z en función de la temperatura y presión.

mm Hg	Temp	Corv Factor
760	10	1,001438
	11	1,001523
	12	1,001622
	13	1,001733
	14	1,001855
	15	1,001990
	16	1,002138
	17	1,002296
	18	1,002466
	19	1,002648
	20	1,002839
	21	1,003043
	22	1,003255
	23	1,003479
	24	1,003712
	25	1,003955
	26	1,004209
	27	1,004472
	28	1,004744
	29	1,005025
	30	1,005316

5. CALCULAR LA INCERTUDUMBRE EXPANDIDA:

$$UV_{(20)} = uV_{(20)} \cdot K = 0,007$$

$$\%U = 0,72$$

Tolerancia % 2,00
 Error calib % 0,70
 U (k=2) % 0,72

Error calib% + U% < Tolencia%

SI CUMPLE ✓

Fecha cálculos: 16/06/2011

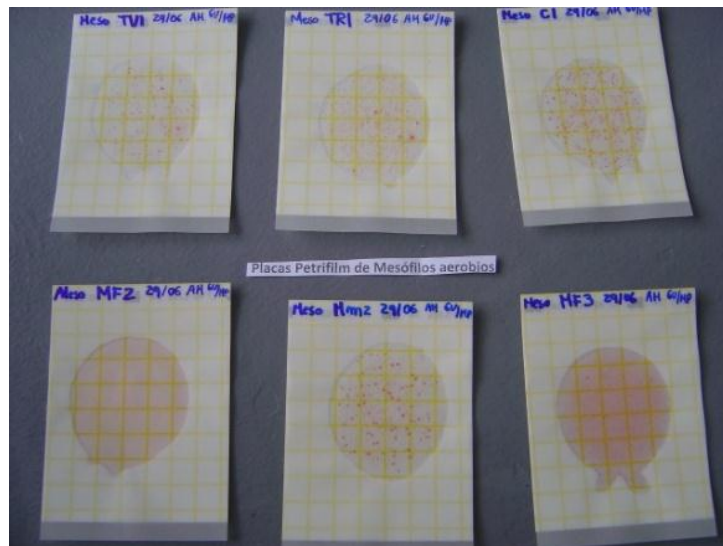
Anexo 17. Resultados obtenidos en la primera fase del muestreo

Imagen 18. Placas Petrifilm de *E.coli* /Coliformes Totales.



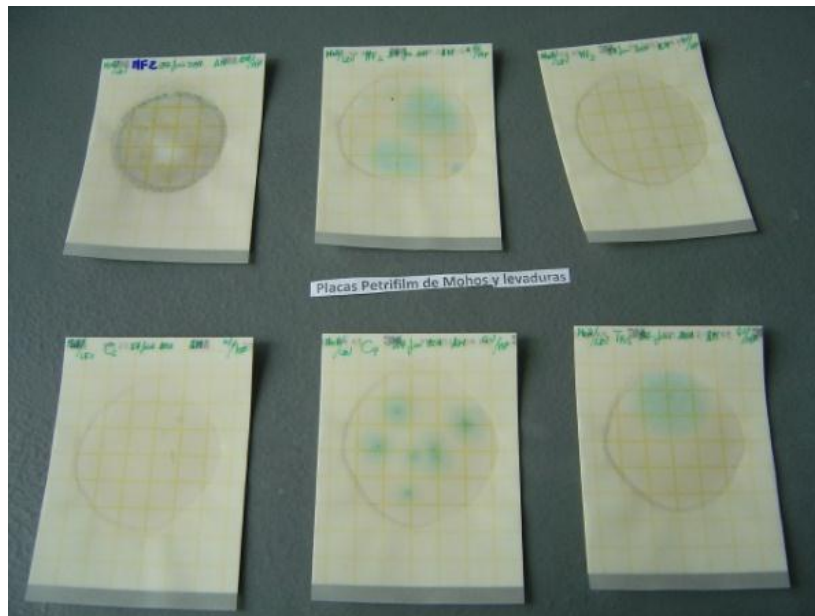
Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

Imagen 19. Placas Petrifilm de Aerobios Mesófilos.



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

Imagen 20. Placas Petrifilm de Mohos y Levaduras



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

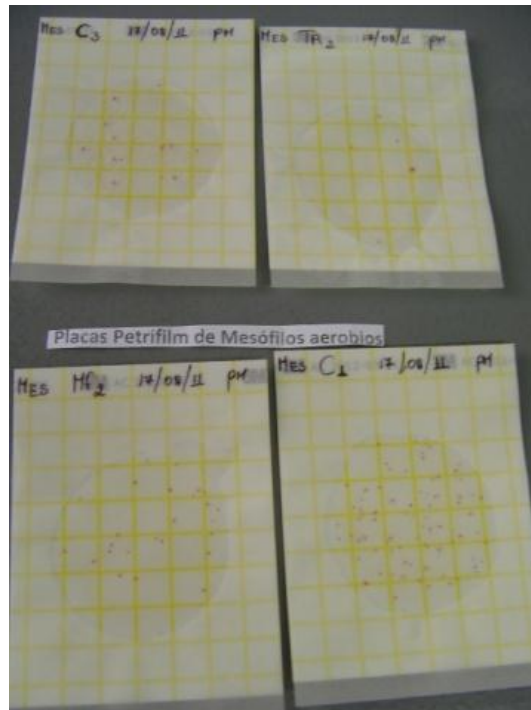
Anexo 18. Resultados obtenidos en la segunda fase del muestreo

Imagen 21. Placas Petrifilm de *E.coli* /Coliformes Totales.



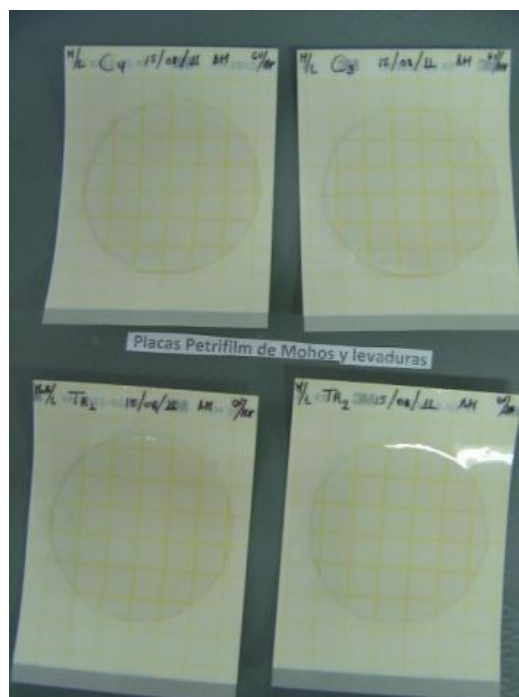
Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

Imagen 22. Placas Petrifilm de Aerobios Mesófilos.



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel

Imagen 23. Placas Petrifilm de Mohos y levaduras



Fotografiado por Gabriela Vargas y Maribel Peñafiel


Anexo 19. Presentación de la capacitación impartida al personal de cocina

Procesos de Limpieza y Desinfección de superficies

Galvina Vargas
Mónica Pineda



Introducción

- La limpieza y desinfección son operaciones independientes y complementarias, que tienen como objetivo reducir o eliminar la población microbiana que pueda contaminar los alimentos y ser causa de infecciones alimentarias.





Definiciones

- Limpieza**: consiste en la eliminación de tierra, residuos de alimentos, suciedad, grasa u otras materias.





Definiciones


- Desinfección**: es la reducción del número de microorganismos, mediante agentes químicos (desinfectantes) o métodos físicos (calor seco o húmedo, etc.).

Procesos de limpieza y desinfección de superficies donde se preparan alimentos



Limpieza y desinfección de mesas de trabajo





Etapas en los procesos de Limpieza y Desinfección de mesas:

- Paso 1:** eliminar los restos de suciedad más grandes, que se desechan manualmente.
- Paso 2:** Enjuague inicial: Se utiliza agua hasta que no haya restos visibles de alimentos.




Etapas en los procesos de Limpieza y Desinfección de mesas:

- Paso 3:** Aplicación de agentes limpiadores como jabones y detergentes. (diluir el detergente en las concentraciones fijadas por el fabricante)
- En este paso es importante esparcir uniformemente la solución de jabón por la superficie con la ayuda de una esponja o cepillo.

Etapas en los procesos de Limpieza y Desinfección de mesas:

- Paso 6:** Desinfección: aplicación del desinfectante.
 - Es importante que las superficies estén limpias para lograr un mayor contacto del desinfectante y para que este sea eficaz.
 - Respetar los tiempos de contacto del desinfectante (de 4 a 5 min)
 - Dosificar correctamente el desinfectante, para ello debe usarse un recipiente de medida con graduaciones (probeta, botella, taza de medir).






- BIOCLEANER C**
- (desinfectante de superficies)




Desinfección de mesones, equipos, utensilios, limpiadores y termómetro

Etapas en los procesos de Limpieza y Desinfección de mesas:

- Paso 7:** Enjuague con agua. Se utiliza agua para remover los restos de desinfectantes.
- El agua que se utilice debe ser potable.

Limpieza y desinfección de tablas de picar y cuchillos






Etapas en los procesos de Limpieza y Desinfección de tablas de picar y cuchillos:

- Paso 1:** Retire los residuos de comida y enjuague con agua.
- Paso 2:** Restregar los utensilios esparciendo el jabón con una esponja.




Etapas en los procesos de Limpieza y Desinfección de tablas de picar y cuchillos:

- Paso 3:** Enjuague con agua limpia.
 - En el caso de tablas de picar en donde se preparan productos que sean grasosos es recomendable utilizar agua caliente para quitar la grasa de la superficie.

Etapas en los procesos de Limpieza y Desinfección de tablas de picar y cuchillos:

- Paso 4:** Desinfecte los utensilios sumergiéndolos en una solución desinfectante de 10 a 15 minutos.
- Paso 5:** Antes de utilizar las tablas y los







- ### Recomendaciones
- La limpieza y desinfección deben ser procesos que se apliquen a diario y con frecuencia para eliminar microorganismos indeseables.
 - Las reacciones químicas de limpieza y desinfección **no son nunca instantáneas** y debe respetarse un tiempo mínimo de acción.

- ### Recomendaciones
- Los implementos de limpieza deben ser de uso específico, de ninguna manera deben utilizarse para otros fines.
 - Todos los implementos de limpieza deben mantenerse sobre una superficie limpia o sumergidos en una solución desinfectante cuando no estén en uso.



Bibliografía

- ARMADA Dominguez Lourdes, Ros Oliver Cristiana. Manuales de alimentos. La importancia de la limpieza en la elaboración y manipulación de alimentos. Bogotá, 2006. Internet: <http://www.fao.org/docstore/01/01020201.pdf>. Acceso 27/02/2010.
- ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL. Manuales de alimentos. Escuelas de Ingeniería y Tecnología. Acceso 27/02/2010.
- LAMARCA Catalina Fernandez y BARRERA Lopez Jose. Reglamento Técnico de Normas en Industrias Alimentarias de Ecuador y la Mancha. Internet: <http://www.gub.ec/>. Acceso 06/03/10.
- PE. PELAYO Mario. Desinfección de verduras en la industria alimentaria. La importancia de la limpieza y de la higiene en el control de calidad de los alimentos. Internet: <http://www.fao.org/docstore/01/01020201.pdf>. Acceso 27/02/2010.
- REYES Pita. Limpieza y desinfección en la industria alimentaria. Internet: <http://www.fao.org/docstore/01/01020201.pdf>. Acceso 06/03/10.
- SEN. Procedimientos Programa de Sanitarios. Internet: <http://www.sen.gov.ec/>. Acceso 27/02/10.
- TAMBO. Agencia de Alimentos. Alimentos críticos para la limpieza y sanidad de los alimentos. Marzo 20, 2007. Internet: <http://www.alimentoscriticos.com/images/stories/01/01020201.pdf>. Acceso 06/03/10.