

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**ESCUELA DE BIOANÁLISIS**

**CARRERA DE MICROBIOLOGÍA**

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
MICROBIÓLOGA**

**“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL AGUA DE PLATA SOBRE  
MICROORGANISMOS INDICADORES DE CONTAMINACIÓN  
AISLADOS DE MANOS DE MANIPULADORES DE ALIMENTOS DE  
CUATRO CAFETERÍAS DE UN CENTRO DE EDUCACIÓN  
SUPERIOR”**

**VERÓNICA MICHELLE JARA SANTAMARÍA**

**DIRECTORA: Mtr. ELENA GRANDA**

**QUITO, 2016**

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, Verónica Michelle Jara Santamaría, C.I. 172201985-6, autor del trabajo de graduación intitulado: Efecto antibacteriano del agua de plata sobre microorganismos indicadores de contaminación aislados de manos de manipuladores de alimentos de cuatro cafeterías de un centro de educación superior, previa a la obtención del grado académico de MICROBIÓLOGA 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 SENECYT 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 la Universidad.



Verónica Michelle Jara Santamaría

C.I. 172201985-6

# **DEDICATORIA**

A Dios

A mi madre

A mi familia

A todos quienes ayudaron  
a construir este camino.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios quien jamás me abandona y pone en mi camino oportunidades cuando más las necesito.

A mi madre por siempre estar presta a ayudar en todo lo que fuera necesario y criarme de la forma en que lo hizo.

A mi pequeña familia por motivarme a siempre querer hacer algo y ser alguien más por y para ustedes.

A cada uno de mis maestros por alimentar mi curiosidad y por permitirme conocer su parte más humana.

A Elenita profesora y confidente quien me brindó su apoyo al permitirme trabajar con ella en esta tesis.

A quienes me presionaron por mi bien para que esto concluya y empiece nuevos proyectos.

A todos ellos, mil gracias por ayudarme día a día siempre y en todo.

Vero

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE ANEXOS.....	x
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
CAPÍTULO I	
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. OBJETIVOS .....	4
1.1.1. OBJETIVO GENERAL.....	4
1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
CAPITULO II	
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Contaminación de los alimentos .....	5
2.2. Mecanismos de contaminación .....	6
2.2.1. Contaminación primaria o de origen:.....	6
2.2.2. Contaminación .....	6
2.2.3. Contaminación cruzada.....	6
2.3. Manipuladores.....	7
2.4. Enfermedades de transmisión alimentaria .....	7
2.4.1. Clasificación de las enfermedades alimentarias.....	7
2.4.1.1. Infección alimentaria.....	7
2.4.1.2. Intoxicación alimentaria.....	7
2.5. Principales microorganismos involucrados en ETA's.....	8
2.5.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9

2.5.2.	<i>Escherichia coli</i> .....	9
2.6.	Medidas higiénico- sanitarias.....	9
2.6.1.	Lavado de manos .....	10
2.6.1.1.	Higiene de las manos .....	10
2.7.	Antisépticos y desinfectantes .....	11
2.7.1.	Antiséptico .....	11
2.7.1.1.	Normas de utilización y conservación de los antisépticos .....	12
2.7.2.	Desinfectante.....	12
2.7.2.1.	Criterios a considerar para la elección de un desinfectante .....	13
2.7.3.	Mecanismo de acción de los antisépticos y desinfectantes.....	13
2.8.	La plata.....	13
2.8.1.	Generalidades de la plata .....	13
2.8.1.1.	Plata coloidal.....	13
2.8.1.2.	Plata iónica.....	13
2.8.1.3.	Mecanismos de acción de la plata.....	14
2.8.2.	Agua de plata .....	14
<b>CAPITULO III</b>		
3.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	15
3.1.	<b>MATERIALES Y EQUIPOS</b> .....	15
3.1.1.	Materiales Fase de campo .....	15
3.1.2.	Materiales Fase de laboratorio .....	15
3.1.3.	Equipos.....	15
3.2.	<b>MÉTODOS</b> .....	16
3.2.1.	<b>ÁREA DE ESTUDIO</b> .....	16
3.2.2.	<b>RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS</b> .....	16
3.2.2.1.	Codificación .....	16

3.3.	PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS .....	17
3.3.1.	Fase pre analítica.....	17
3.3.1.1.	Preparación hojas de registros.....	17
3.3.1.2.	Preparación de agua peptonada.....	17
3.3.1.3.	Preparación de material de trabajo.....	17
3.3.1.4.	Preparación de placas Petrifilm.....	17
3.3.2.	Fase analítica.....	18
3.3.2.1.	Toma de muestras .....	18
3.3.2.2.	Análisis de las muestras .....	18
3.3.2.3.	Control de calidad .....	19
3.4.	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LOS DATOS .....	19
CAPITULO IV		
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	21
4.1.	Aislamiento de Mesófilos aerobios, Coliformes totales, <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> de manos de manipuladores de alimentos pertenecientes a PAP 1, PAP 2, PAP 3 y PAP 4.....	21
4.2.	Efecto de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm y tiempos de contacto de 1 minutos y 5 minutos sobre Mesófilos aerobios (MA) aislados de manos de manipuladores de alimentos pertenecientes a PAP 1, PAP 2, PAP 3 y PAP 4.....	23
4.3.	Efecto de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm y tiempos de contacto de 1 minutos y 5 minutos sobre Coliformes totales (CT)/ <i>Escherichia coli</i> aislados de manos de manipuladores de alimentos pertenecientes a PAP 1, PAP 2, PAP 3 y PAP 4.....	29
4.4.	Efecto de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm y tiempos de contacto de 1 minutos y 5 minutos sobre <i>Staphylococcus aureus</i> (SA) aislados de manos de manipuladores de alimentos pertenecientes a PAP 1, PAP 2, PAP 3 y PAP 4.	
35		
CONCLUSIONES.....		41

RECOMENDACIONES.....	42
REFERENCIAS.....	43
ANEXOS.....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Principales vías de contaminación de los alimentos. Mataix (2005).....	5
<b>Figura 2.</b> Poster, Correcto lavado de manos. OMS (2009). .....	11
<b>Figura 3.</b> Plano Campus Centro de educacion superior (Sitios de muestreo color amarillo)16	16
<b>Figura 4.</b> Mesófilos Aerobios PAP1: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.....	23
<b>Figura 5.</b> Mesófilos Aerobios PAP2: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.....	24
<b>Figura 6.</b> Mesófilos Aerobios PAP3: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.....	24
<b>Figura 7.</b> Mesófilos Aerobios PAP4: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.....	25
<b>Figura 8.</b> Grafica de efectos para Mesófilos aerobios: Relación UFC/mano en relación al tiempo de contacto. ....	25
<b>Figura 1.</b> Placas Petrifilm para conteo de Mesófilos aerobios: UFC/mano antes (izquierda) y después del tratamiento (derecha) con agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm con tiempos de contacto de 1 y 5 minutos.....	26
<b>Figura 10.</b> Coliformes totales PAP1: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.....	29
<b>Figura 11.</b> Coliformes totales PAP2: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.....	29
<b>Figura 12.</b> Coliformes totales PAP3: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.....	30
<b>Figura 13.</b> Coliformes totales PAP4: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.....	30
<b>Figura 14.</b> Grafica de efectos para Coliformes Totales: Relación UFC/mano en relación al tiempo de contacto. ....	31

<b>Figura 2.</b> Placas Petrifilm para conteo de Coliformes totales: UFC/mano antes (izquierda) y después del tratamiento (derecha) con agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm con tiempos de contacto de 1 y 5 minutos.....	31
<b>Figura 16.</b> <i>Staphylococcus aureus</i> PAP1: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos. ....	35
<b>Figura 17.</b> <i>Staphylococcus aureus</i> PAP2: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos. ....	35
<b>Figura 18.</b> <i>Staphylococcus aureus</i> PAP3: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos. ....	36
<b>Figura 19.</b> <i>Staphylococcus aureus</i> PAP4: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos. ....	36
<b>Figura 20.</b> Placas Petrifilm para conteo de <i>Staphylococcus aureus</i> : UFC/mano antes(izquierda) y después (derecha) del tratamiento con agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm con tiempos de contacto de 1 y 5 minutos. ....	37
<b>Figura 21.</b> Gráfica de efectos para <i>Staphylococcus aureus</i> : Relación UFC/mano en relación al tiempo de contacto.....	38

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Mecanismos de contaminación de los alimentos. (MSP, 2012).....	6
<b>Tabla 2.</b> Microorganismos más comunes asociados a los diferentes tipos de enfermedades alimentarias. Modificado por: Verónica Jara. Fuente: (Domínguez, 2007).....	8
<b>Tabla 3.</b> Resultado del cumplimiento de los requisitos microbiológicos por microorganismo en superficies vivas (n=24) .....	22
<b>Tabla 4.</b> Resultados generales de Mesófilos Aerobios presentes en las muestras puras y las muestras bajo tratamiento de agua de plata.....	27
<b>Tabla 5.</b> Resultados generales de Coliformes totales presentes en las muestras puras y las muestras bajo tratamiento de agua de plata.....	33
<b>Tabla 6.</b> Resultados generales de <i>Staphylococcus aureus</i> presentes en las muestras puras y las muestras bajo tratamiento de agua de plata. ....	39

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1:</b> Codificación manipuladores PAP1 .....	53
<b>Anexo 2:</b> Codificación manipuladores PAP2 .....	54
<b>Anexo 3:</b> Codificación manipuladores PAP3 .....	55
<b>Anexo 4:</b> Codificación manipuladores PAP4 .....	56
<b>Anexo 5:</b> Selección del método de muestreo. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas.....	57
<b>Anexo 6:</b> Hoja de datos informativos proyecto k13101 .....	60
<b>Anexo 7:</b> Preparación de agua peptonada al 0,1 %.....	61
<b>Anexo 8:</b> Codificación de las muestras.....	62
<b>Anexo 9:</b> Toma de muestras .....	63
<b>Anexo 10:</b> Procesamiento de las muestras.....	64
<b>Anexo 11:</b> Procesamiento de las muestras .....	66
<b>Anexo 12:</b> Petrifilm Mesófilos aerobios. ....	67
<b>Anexo 13:</b> Petrifilm <i>Escherichia coli</i> /Coliformes. ....	73
<b>Anexo 14:</b> PETRIFILM Staph Express Count Plate. ....	79
<b>Anexo 15:</b> Documento de certificación de las concentraciones de agua de plata de 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm (Cortesía de Ing. Osvaldo Carbonari - ARGENTUM) .....	85
<b>Anexo 16:</b> Certificado de Cepa <i>Escherichia coli</i> ATCC 35218.....	87
<b>Anexo 17:</b> Certificado de Cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 .....	88
<b>Anexo 18:</b> Diseño de experimentos factorial para Mesófilos aerobios. ....	98
<b>Anexo 19:</b> Diseño de experimentos factorial para Coliformes Totales .....	99
<b>Anexo 20:</b> Diseño de experimentos factorial para <i>Staphylococcus aureus</i> .....	100
<b>Anexo 21:</b> Tabla de resultados de crecimiento de Mesófilos Aerobios .....	101
<b>Anexo 22:</b> Tabla de resultados de crecimiento de Coliformes totales.....	102

<b>Anexo 23:</b> Tabla de resultados de crecimiento de <i>Escherichia coli</i> .....	103
<b>Anexo 24:</b> Tabla de resultados de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	104
<b>Anexo 25:</b> Documento de autorización muestreos proyecto PUCE 2014 .....	105
<b>Anexo 26:</b> Formulario Control de Temperaturas (Refrigeradora - Incubadora) .....	106

## RESUMEN

Se evaluó la efectividad del uso de agua de plata en la reducción de microorganismos indicadores de contaminación (Mesófilos aerobios, *Escherichia coli*, Coliformes totales y *Staphylococcus aureus*) procedentes de manipuladores de alimentos que preparaban los alimentos en diferentes cafeterías de un centro de educación superior.

El estudio se realizó un estudio con 24 muestras resultantes del lavado de manos de manipuladores de alimentos que se encontraban en su jornada laboral, se cuantificó la carga bacteriana de Mesófilos aerobios, Coliformes totales/*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en sus manos. Se encontró que el 100% de las muestras presentaron un crecimiento >3000 UFC/mano incumpliendo el límite permisible para Mesófilos aerobios, para Coliformes totales el 50 % de las muestras se encontraron por encima del límite permisible de  $\leq 100$  UFC/mano, *Escherichia coli* estuvo presente en 4.16% de las muestras mientras que *Staphylococcus aureus* se encontró dentro del límite permisible de  $\leq 100$  ufc/mano en 58.33% de las muestras.

Después de la aplicación de agua de plata, usando un diseño de experimento factorial de dos factores y el análisis de varianza (ANOVA) se encontró que la variable que interviene en la una reducción significativa ( $p < 0,05$ ) de la carga bacteriana es el tiempo de contacto, excepto para el indicador de contaminación *Staphylococcus aureus*. En este caso ninguna de las variables (tiempo y concentración, ni la interacción de ambas variables) reduce significativamente su contaje inicial.

En conclusión, la aplicación del agua de plata durante 5 minutos es efectiva para la reducción o eliminación de microorganismos indicadores de contaminación presentes en las manos de manipuladores de alimentos.

**Palabras clave:** *Indicadores de contaminación; Mesófilos aerobios; Coliformes totales/Escherichia coli; Staphylococcus aureus; Agua de plata.*

## ABSTRACT

The effectiveness of the use of silver water was assessed in reducing pollution indicator organisms (aerobic mesophilic, *Escherichia coli*, total coliforms and *Staphylococcus aureus*) from food handlers preparing food in different cafes of higher education centre. The study was conducted with 24 samples resulting from hand washes of food handlers who were in his day's work; the bacterial load of aerobic mesophyll was quantified, total coliforms/*Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in their hands. It was found that 100% of the samples showed a growth of > 3000 CFU/hand breaching the permissible limit for aerobic mesophilic, for total coliforms, 50% of the samples were found above the permissible limit  $\leq 100$  cfu/hand, *Escherichia coli* was present at 4.16% of the samples while that *Staphylococcus aureus* was found within the permissible limit  $\leq 100$  cfu/hand in 58.33% of the samples.

After the application of silver water, using an experiment design factor of two factors and the analysis of variance (ANOVA) was found that the variable involved in the significant reduction ( $p < 0.05$ ) of the bacterial load was the contact time except for the contamination indicator *Staphylococcus aureus*. In this case none of the variables (time and concentration, or the interaction of both variables) significantly reduced its initial count. In conclusion, the application of silver water for 5 minutes was effective for the reduction or elimination of contamination indicators microorganism presented in the hands of food handlers.

*Keywords: Indicators of contamination; Aerobic mesophyll; Coliforms total/Escherichia coli; Staphylococcus aureus; Silver water.*



# 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA's) generan grandes gastos para los sistemas de control de la salud a nivel mundial, debido a la ingestión de alimentos preparados en condiciones insalubres, un gran número de personas enferman y muchas de ellas mueren (OMS, 2014). Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS), la contaminación bacteriana de los alimentos a causa de las malas prácticas de manipulación es el factor más importante que ha sido asociado a la aparición de brotes de ETA's en América Latina y el Caribe (OPS, 2002). Esta situación refleja una falta de compromiso de los productores alimenticios en implementar las Buenas Prácticas de Manufactura que garanticen alimentos seguros para el consumidor (OPS, 2002; Valdivieso, 2008).

En el Ecuador, el número de intoxicaciones alimentarias ha variado en los últimos años. En 2007 el Ministerio de Salud Pública (MSP) registró 10199 casos de intoxicaciones alimentarias (MSP, 2008). Por otro lado, el sistema de vigilancia SIVE-ALERTA del MSP reporta la existencia de 8 090 casos de intoxicaciones alimentarias en todo el país en el 2014 (MSP, 2014). Pese a que la tasa de intoxicación alimentaria ha decrecido, la tasa disminuyó de 66,3 por 100000 habitantes en 2006 a 30,7 en 2010 (OPS, 2012), aún sigue siendo preocupante su permanencia en las listas de enfermedades más importantes dentro del país.

De acuerdo a la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, los diferentes patotipos de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Norovirus* (Virus del tipo Norwalk), *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *Yersinia enterocolitica* constituyen los principales patógenos transmitidos por los alimentos que puede afectar la salud de las personas (FDA, 2014). De todos ellos, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia. coli* son las bacteria más reportadas como agentes responsables de intoxicación alimentaria. En particular, *Staphylococcus aureus* se caracteriza por la producción de enterotoxinas preformadas en el alimento a consumirse lo que causa intoxicación alimentaria a las personas. La intoxicación estafilocócica es una de las ETA's más frecuentes en todo el mundo (Hennekinne, De Buyser & Dragacci, 2012). Esto se debe principalmente a que *Staphylococcus aureus* puede estar presente en la piel y fosas nasales de los seres humanos formando parte de su flora

normal; sin embargo puede ser transferido a los alimentos por las personas como consecuencia de una mala manipulación y una higiene deficiente (Madigan, Martinko & Parker, 2003). Por otro lado, *Escherichia coli*, en particular sus diferentes patotipos, es otra de las bacterias causantes de ETA's. La presencia de esta bacteria en los diferentes tipos de alimentos se la ha asociado a procesos de elaboración de alimentos en condiciones antihigiénicas así como también a la utilización de aguas contaminadas (Di Pietro et al., 2004).

Las medidas de control para prevenir o minimizar la aparición de estas enfermedades incluyen la implementación de técnicas de lavado de manos y concientización de los profesionales involucrados en la preparación, almacenamiento y expendio de diferentes tipos de alimentos. Una de las medidas más usadas es el uso de antisépticos después del lavado de manos que garanticen una reducción significativa de microorganismos para considerar que el alimento será inocuo para los consumidores. En este sentido, varios estudios han demostrado la eficacia de antisépticos para la higiene de manos en manipuladores de alimentos (Almeida, Kuyaye, Serrano & Almeida, 1995). No obstante, el uso de jabones ordinarios debido a su composición química puede estar asociado con la colonización con bacilos Gram-negativos de manos (Sartor, Jacomo, Duvivier, Tissot-Dupont, Sambuc & Drancourt, 2000). Otros tipos de desinfectantes más utilizados son los alcoholes al 60 % y 95% que resultan ser los más eficaces contra la actividad antimicrobiana debida a su capacidad de desnaturalizar las proteínas. Sin embargo, su actividad se ve limitada al aumentar las concentraciones debido a que la presencia de agua es necesaria para desnaturalizar las proteínas (CDC, 2002).

La pérdida de sensibilidad por parte de las bacterias a ciertos agentes antisépticos puede ser una característica normal de una especie bacteriana o un mecanismo adquirido (Russell, 2001). Por lo que es necesario el estudio de nuevas e interesantes soluciones desinfectantes como lo es el agua de plata iónica. Esta solución se caracteriza por su acción oligodinámica (Negroni, 2009) con efecto bactericida a bajas concentraciones y un menor tiempo de contacto (Simonetti, Simoneyti, Bougnol & Salzo, 1992; Negroni, 2009). Esta actividad antimicrobiana de partículas de plata ha sido estudiada y probada sobre diferentes microorganismos como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Bacterias que han sido consideradas de gran importancia en la salud humana por ser los principales patógenos involucrados en infecciones tóxicas alimentarias (Jung et al., 2008).

Aunque hay varios estudios relacionados con la actividad bacteriana del agua de plata a nivel mundial, en el país no existen estudios sobre la actividad antimicrobiana de las partículas de plata y su efecto bactericida sobre microorganismos indicadores de contaminación; en particular, de los microorganismos aislados de manipuladores de alimentos. Por lo que, el propósito del presente trabajo es responder a la pregunta: ¿Cuál es la concentración y el tiempo de contacto del agua de plata que presenta mayor efecto antimicrobiano sobre microorganismos indicadores de contaminación aislados de manos de manipuladores de alimentos de cuatro cafeterías de un centro de educación superior?

## **1.1. OBJETIVOS**

### **1.1.1. OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto antibacteriano del agua de plata sobre microorganismos indicadores de contaminación aislados de manos de manipuladores de alimentos de cuatro cafeterías de una institución de educación superior mediante análisis microbiológicos.

### **1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

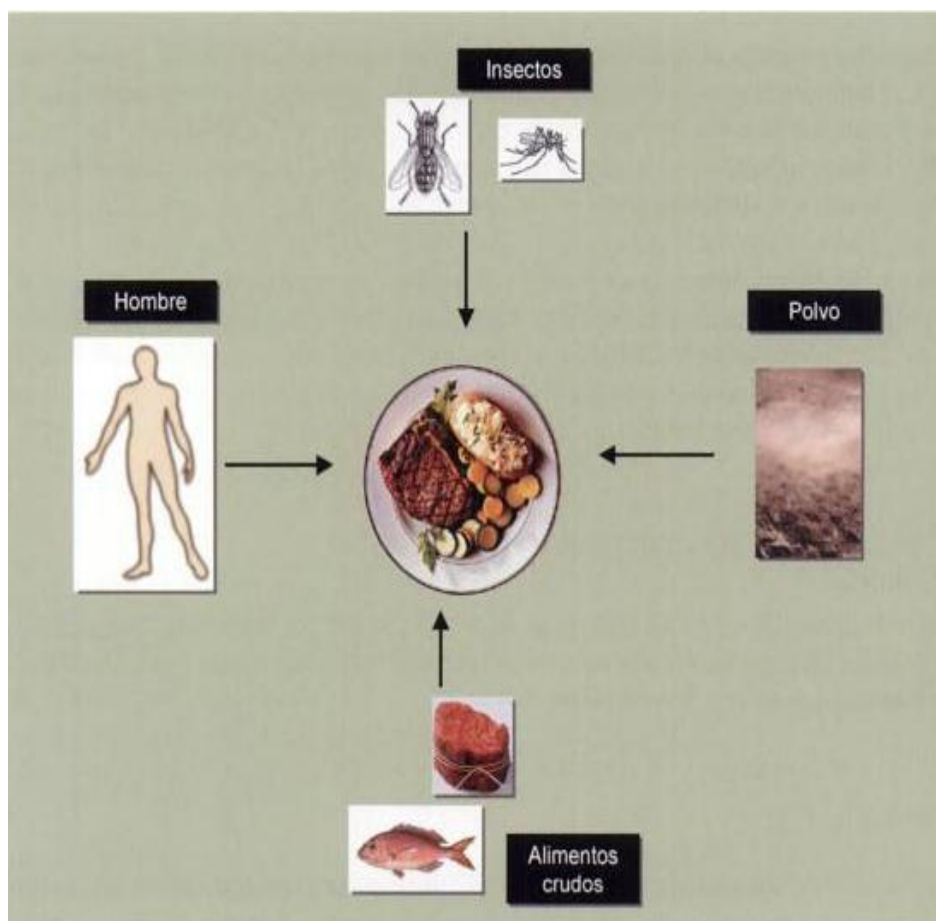
- Aislar e identificar los microorganismos indicadores de contaminación presentes en las manos de manipuladores de alimentos.
- Determinar el efecto antimicrobiano del agua de plata a una concentración de 4 ppm y dos tiempos de contacto sobre Mesófilos aerobios, Coliformes totales/*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
- Determinar el efecto antimicrobiano del agua de plata a una concentración de 10 ppm y dos tiempos de contacto sobre Mesófilos aerobios, Coliformes totales/*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Contaminación de los alimentos

La contaminación se puede definir como la presencia de cualquier compuesto diferente o extraño al producto de origen donde este se encuentra. Estos contaminantes pueden ser agentes biológicos, físicos, químicos o cualquier otro componente que comprometa la inocuidad del alimento a ser consumido. Los contaminantes pueden provenir de las propias materias primas o a las practicas inadecuadas de manipulación de los alimentos (Cameán & Repetto, 2012; Correia et al, 2012; Villagómez, 2011).

La contaminación biológica de los alimentos se puede dar por diferentes vías como se muestra en la Figura. 1, siendo el hombre la vía más frecuente de contaminación de alimentos por ser portador habitual de microorganismos, a este contacto también se lo puede considerar un tipo de contaminación cruzada.



**Figura 3.** Principales vías de contaminación de los alimentos. Mataix (2005).

## 2.2. Mecanismos de contaminación

Tenemaza, (2014) señala que los mecanismos de contaminación se pueden clasificar de la siguiente manera:

**2.2.1. Contaminación primaria o de origen:** la cual se da durante el proceso de producción del alimento.

**2.2.2. Contaminación directa:** en la cual los contaminantes llegan al alimento mediante las personas que manipulan alimentos mediante expulsión de gotas de saliva, heridas infectadas o contaminadas por falta de una correcta higiene, por vectores como moscas u otras plagas, y cuando cuerpos extraños se introducen al alimento.

**2.2.3. Contaminación cruzada:** es el paso de cualquier contaminante (físico, químico, biológico), desde un alimento contaminado a un alimento que no lo está mediante el uso de utensilios, equipos o mesones para procesar los diferentes alimentos (Ver Tabla 1.).

<b>CONTAMINACIÓN DIRECTA</b>	<b>CONTAMINACIÓN INDIRECTA</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Alimentos procedentes de animales enfermos o portadores sanos (Carnes, huevos, lácteos, etc.)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Arrastre por el viento de heces fecales, residuos, presencia de roedores, insectos y animales domésticos.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Ingreso de microorganismos procedentes de organismos enfermos o portadores sanos.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Utensilios y/o equipos sucios y/o contaminados en industrias, comedores o expendio de comidas.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Ingreso de microgotas respiratorias de los manipuladores.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Uso del agua residual no tratada para riego.</li></ul>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Ingreso de microorganismos del tracto digestivo de animales sacrificados o de tierras de cultivo.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Contacto con alientos contaminados, malas condiciones de transporte, almacenaje y/o malas prácticas de manipulación.</li></ul>

**Tabla 1.** Mecanismos de contaminación de los alimentos. (MSP, 2012)

## **2.3. Manipuladores**

Un manipulador de alimentos es toda persona, que por su actividad laboral, tiene contacto directo con los alimentos durante su producción, elaboración, envasado, almacenamiento, distribución y/o expendio (Ministerio de Salud Pública de Chile, 2013, Dirección General para la Salud Pública, 2012).

## **2.4. Enfermedades de transmisión alimentaria**

Las enfermedades transmitidas por alimentos se adquieren cuando se consumen alimentos que se han contaminado, por microorganismos o sustancias químicas (OMS, 2014), en alguna etapa de su proceso de producción tal como un mal manejo de los alimentos al momento de prepararlos (Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica, s.f.)

### **2.4.1. Clasificación de las enfermedades alimentarias**

Los alimentos contaminados que son ingeridos pueden causar dos tipos de enfermedad infección e intoxicación (Ver Tabla 2).

#### **2.4.1.1. *Infección alimentaria***

Las infecciones de tipo alimentario son un tipo de enfermedad que se puede producir por la ingestión de alimentos o agua que contengan agentes infecciosos tales como bacterias, virus, hongos y parásitos, los cuales pueden multiplicarse y producir toxinas (Parham, 2006).

#### **2.4.1.2. *Intoxicación alimentaria***

La intoxicación es un tipo de enfermedad transmitida por alimentos producidas por la ingestión de toxinas. Las toxinas son productos metabólicos de microorganismos en los alimentos en cualquier momento desde su producción hasta su consumo (INPPAZ - OPS - OMS, 2001). Los principales microorganismos relacionados con este tipo de intoxicaciones son *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* (Heymann, 2005).

<b>TIPO DE ENFERMEDAD ALIMENTARIA</b>	<b>MICROORGANISMO</b>	<b>FUENTE DE CONTAMINACION HABITUAL</b>
<b>INFECCIONES ALIMENTARIAS</b>	<i>Salmonella spp.</i>	Huevos crudos y ovoproductos, carnes (principalmente de aves), leche no- pasteurizada, aguas.
	<i>Shigella spp.</i>	Vía fecal – oral, moscas
	<i>Listeria monocytogenes</i>	Productos lácteos
	<i>Vibrio parahemolyticus</i>	Mariscos
<b>INTOXICACIONES ALIMENTARIAS</b>	<i>Bacillus cereus</i>	Alimentos secos (harinas, cereales, etc.)
	<i>Clostridium botulinum</i>	Alimentos térmicamente de forma insuficiente (conservas).
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Piel, fosas nasales y garganta del ser humano
<b>TOXIINFECCIONES ALIMENTARIAS</b>	<i>Vibrio cholerae</i>	Aguas contaminadas, producto de origen marino.
	<i>Escherichia coli</i>	Contaminación fecal

**Tabla 2.** Microorganismos más comunes asociados a los diferentes tipos de enfermedades alimentarias. Modificado por: Verónica Jara. Fuente: (Domínguez, 2007).

## **2.5. Principales microorganismos involucrados en ETA's**

De acuerdo a la *Food and Drug Administration* (FDA), *Campylobacter jejuni*, *Clostridium botulinum*, *C. perfringens*, los diferentes patotipos de *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Norovirus* (*Virus del tipo Norwalk*), *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*,

*Shigella*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* y *Yersinia enterocolitica* constituyen los principales patógenos transmitidos por los alimentos involucrados en intoxicaciones alimentarias que puede afectar la salud de las personas (FDA, 2014).

A continuación se describen los microorganismos más comunes asociados a enfermedades de transmisión alimentaria:

### **2.5.1. *Staphylococcus aureus***

Generalidades: Cocos dispuestos en racimos, Gram positivos, aerobios. Bacteria de importancia clínica ya que puede producir coagulasa, proteína que es capaz de coagular el plasma., también es productora de toxinas termoestables que provocan síntomas a las pocas horas de haber ingerido el alimento contaminado. La bacteria se aloja en heridas o erupciones de la piel y forma parte de la flora normal de nariz, garganta y la piel. Se transmite mediante secreciones nasales o salivales y manos mal higienizadas (Armendáriz, 2012).

### **2.5.2. *Escherichia coli***

Generalidades: Bacilo, Gram negativo, posee flagelos peritricos, se encuentra en el intestino del hombre y de animales. Esta bacteria es una de las principales causantes de intoxicación que se da como resultado de una mala higiene por parte del manipulador o por falta de temperatura adecuada en la cocción de dicho alimento. La transmisión se debe a contaminación fecal y/o deficiente higienización por parte del personal que prepara estos alimentos (Armendáriz, 2012).

## **2.6. Medidas higiénico- sanitarias**

En la industria alimentaria se deben controlar los posibles agentes que puedan contaminar los productos. En la etapa de producción, las empresas desarrollan planes de limpieza y desinfección para garantizar la inocuidad del producto. Estas acciones se las toma principalmente con los manipuladores que constituyen una de las principales vías de contaminación debido a que están directamente relacionados a la manufactura de productos alimenticios para el consumo humano (Cabrera, Gómez & Zúñiga, 2007; Castro, 2013).Adicional al procedimiento de limpieza, las empresas mantienen las condiciones higiénico-sanitarias de los manipuladores de alimentos para reducir la cantidad de microorganismos potencialmente patógenos. Para esto, las empresas usan tres acciones

correctivas-preventivas como la higiene de manos, uso de antisépticos y uso de desinfectantes (Ministerio de salud de Chile, 2008).

### **2.6.1. Lavado de manos**

El lavado de manos se ha considerado la medida primaria preventiva más efectiva para evitar la transmisión de infecciones a nivel comunitario. La falta de concientización por parte de la ciudadanía y muchas veces por parte de instituciones o industrias es la que conduce a la transmisión de agentes patógenos y estos desencadenan infecciones (Coelho, Silva & Faria, 2011; MSP, 2012a). Las manos de las personas pueden contaminarse con patógenos como *Staphylococcus aureus* y bacilos Gram negativos por varias vías. La contaminación de las manos puede ser mediante el contacto con sitios o superficies contaminadas o con desechos corporales humanos. Además, si la persona tiene lesiones cutáneas pueden permanecer colonizadas por los microorganismos adquiridos por un largo tiempo. Por otro lado, las uñas propias o artificiales, el uso de anillos representan lugares que están más colonizados que otras áreas de las manos (Allegranzi, Kilpatrick & Pittet, 2011).

#### **2.6.1.1. Higiene de las manos**

Según Cosgrove & Perencevich (2007) y Allegranzi (2011), para la higiene de las manos se han descrito cinco momentos específicos para los que se requiere lavado de manos:

1. Con el fin de minimizar el arrastre de agentes contaminantes de una matriz a otra.
2. Los manipuladores deberán lavar las manos antes de tocar un alimento.
3. Antes de realizar procedimientos limpios o asépticos.
4. Después de exposición o riesgo de exposición a fluidos corporales.
5. Después de tocar un alimento y al cambiar de actividad.

Para esto, la técnica del lavado de manos consiste en una fricción mecánica que implica la utilización de agua y jabón o un limpiador a base de alcohol. Esta acción es importante porque confiere el poder de eliminación de microorganismos patógenos transitorios. La disminución o eliminación de los microorganismos no solo depende de la composición química del agente en sí. Además, para que un agente limpiador (jabón o base de alcohol) sea efectivo requerirá de la cantidad y la calidad así como también de la duración de la fricción. Es así que la técnica de lavado de manos con agua y jabón requiere un tiempo de

duración de 40 a 60 segundos (WHO, 2009b); mientras que, la técnica de lavado de manos con preparaciones alcohólicas tiene un tiempo de duración de 20 a 30 segundos (Figura. 2).

## ¿Cómo lavarse las manos?

¡LÁVESE LAS MANOS SI ESTÁN VISIBLEMENTE SUCIAS!

DE LO CONTRARIO, USE UN PRODUCTO DESINFECTANTE DE LAS MANOS

**1** Duración del lavado: entre 40 y 60 segundos

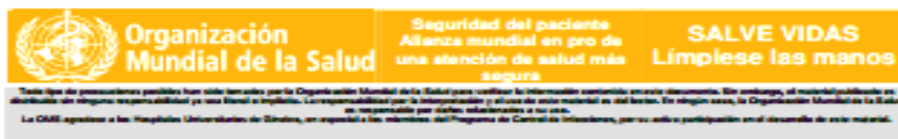


Figura 4. Poster, Correcto lavado de manos. OMS (2009).

## 2.7. Antisépticos y desinfectantes

### 2.7.1. Antiséptico

Antiséptico es un desinfectante sólo para la piel u otro tejido vivo que previene o detiene el crecimiento o la acción de microorganismos por inhibición de su actividad o por destrucción. Los antisépticos no tienen actividad selectiva y a altas concentraciones pueden ser tóxicos para los tejidos vivos (Ministerio de Salud de Chile, 2008; Tancara, 2010;

Hernández, 2014). Las soluciones antisépticas disponibles y utilizadas con más frecuencia son los alcoholes (60 – 90%) como el alcohol etílico isopólico o “alcohol metilado”, gluconato de clorexidina (4%), exaderofeno (3%), los yodos (1 – 3%) que pueden ser yodo foros, yodo povidona en diferentes concentraciones entre otros (Tancara, 2010; Suanca, 2008).

#### **2.7.1.1. Normas de utilización y conservación de los antisépticos**

Para la utilización y conservación de los antisépticos hay que considerar los diferentes factores (pH, concentración, tiempo de actuación, microorganismo sobre el cual debe actuar etc.) que puedan afectar la actividad del antiséptico. Para garantizar la eficacia de estos compuestos químicos es necesario aplicar ciertas normas. Una de las normas importantes es asegurarse de que la persona a utilizar dicho antiséptico no sea alérgica y que el tiempo de actuación debe ser considerado como punto clave tomando en cuenta que no debe desencadenar respuestas contraproducentes para la salud de quien los utiliza. Además, otras normas es que la piel debe limpiarse antes de aplicar la solución antiséptica, respetar la concentración recomendada por el fabricante, no mezclar diferentes antisépticos. Finalmente, las condiciones de envasado deben prevenir al máximo una contaminación a partir del ambiente, su evaporación o cambios en su concentración (Álvarez, 2014; Martínez, 2013; Kehr, 2012).

#### **2.7.2. Desinfectante**

El desinfectante es una sustancia que se aplicada sobre objetos inanimados y destruye microorganismos, a excepción de las esporas bacterianas (Tancara, 2010). Según la Agencia para la Protección del Medio Ambiente (EPA) de los Estados Unidos de Norteamérica, los desinfectantes se clasifican por su efectividad sobre los microorganismos estos son de alto, intermedio y bajo nivel. Un desinfectante de alto nivel es aquel como el glutaraldehído y ácido peracético mata a todos los microorganismos patógenos y algunas veces llegando a eliminar bacterias formadoras de esporas. Los desinfectantes de nivel intermedio como son el cloro y iodoforos son los que eliminan a microorganismos patógenos pero no destruyen a bacterias formadoras de esporas. El desinfectante de bajo nivel es aquel que mata a la mayoría de bacterias no esporuladas, algunos virus y hongos; por ejemplo, los componentes cuaternarios de amonio.

### **2.7.2.1. Criterios a considerar para la elección de un desinfectante**

Para que un desinfectante se lo considere ideal debe cumplir con varias características. Los desinfectantes deben ser fáciles de usar, tener un olor agradable, gran capacidad de limpieza, acción rápida y tener amplio espectro de actividad. Por otro lado, los desinfectantes no deben ser tóxicos, volátiles, corrosivos, contaminar el medio ambiente ni requerir protección especial para su preparación o uso (Soto et al., 2001; Bagur, 2013).

### **2.7.3. Mecanismo de acción de los antisépticos y desinfectantes**

Los antisépticos y desinfectantes químicos pueden actuar de diferentes maneras sobre los microorganismos dependiendo de las características químicas y físicas de estos productos químicos. Estos compuestos afectan a los microorganismos causando daño a nivel de la pared celular, generan alteración de la permeabilidad de la membrana y pared celular y de las moléculas de proteínas y ácidos nucleicos y provocan la inhibición de la síntesis de ácido nucleicos e inhibición enzimática – solubilidad (Tancara, 2010).

## **2.8. La plata**

### **2.8.1. Generalidades de la plata**

La plata es un elemento de transición que puede estar presente dentro de los metales nobles, es dúctil, maleable y buen conductor de calor y electricidad (Valle, s.f.). El número atómico de la plata es 47, su peso atómico es 107,868. La plata puede existir en dos estados de valencia  $Ag^+$  y  $Ag^{2+}$  (Lantagne, 2001). A la plata se la puede encontrar en diversas formas tales como nanopartículas de plata, plata iónica y plata coloidal.

#### **2.8.1.1. Plata coloidal**

Una solución coloidal se compone de macromoléculas coloidales y solventes. La solución coloidal es termodinámicamente estable y fácilmente reconstituido después de la separación de las macromoléculas del disolvente. La plata coloidal es una solución estable de partículas de plata muy pequeñas en suspensión utilizando agua destilada. Las concentraciones altas de plata se suspenden en proteínas ya que en el agua no son estables (Pancorbo, s.f.).

#### **2.8.1.2. Plata iónica**

Esta es una disolución de iones de plata en un medio acuoso (Pancorbo, s.f.).

### **2.8.1.3.      *Mecanismos de acción de la plata***

Russell & Hugo (1994) y Morones (2009) describen tres mecanismos principales de acción de la plata los cuales son responsables de la inactivación bacteriana:

- Reacciona con grupos tiol (sulfhidriilo, SH) en la célula bacteriana; en particular en grupos estructurales y proteínas funcionales
- La plata origina cambios estructurales en las membranas celulares de las bacterias
- Los iones de plata al enlazarse con grupos sulfhidrilos de biomoléculas y con compuestos fosforosulfurados como el ADN pueden llegar a inactivar a la bacteria.
- Los iones de plata provocan la liberación de iones  $K^+$  a partir de las bacterias siendo su blanco de acción el plasma bacteriano o la membrana citoplasmática ya que están asociados con enzimas importantes (Rayman, Lo & Sanwal, 1972; Schreurs & Rosenberg, 1982).

### **2.8.2. Agua de plata**

Es una solución que está compuesta de la mayoría de iones de plata. Los iones de plata son átomos individuales de plata que han perdido 1 electrón permitiendo que se pueda disolver en un medio acuoso como lo es el agua.

### **3. MARCO METODOLÓGICO**

El presente estudio experimental – descriptivo formó parte del Proyecto con código K13101, financiado por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

#### **3.1. MATERIALES Y EQUIPOS**

##### **3.1.1. Materiales Fase de campo**

- Fundas plásticas con cierre hermético
- Marcadores permanentes
- Agua peptonada al 1 %, estéril
- Canastilla

##### **3.1.2. Materiales Fase de laboratorio**

- Puntas desechables 100 µL -1000 µL
- Placas Petrifilm™ para Recuento de Aerobios
- Placas Petrifilm™ para el Recuento de Coliformes/*E. coli*
- Placas Petrifilm Sistema de Recuento 3MPetrifilmStaph Express
- Cepa *Escherichia coli* ATCC 35218 Lote 495-51-10
- Cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 Lote 360-129-1
- Agua de plata ARGENTUM 4ppm
- Agua de plata ARGENTUM 10 ppm
- Frascos de vidrio

##### **3.1.3. Equipos**

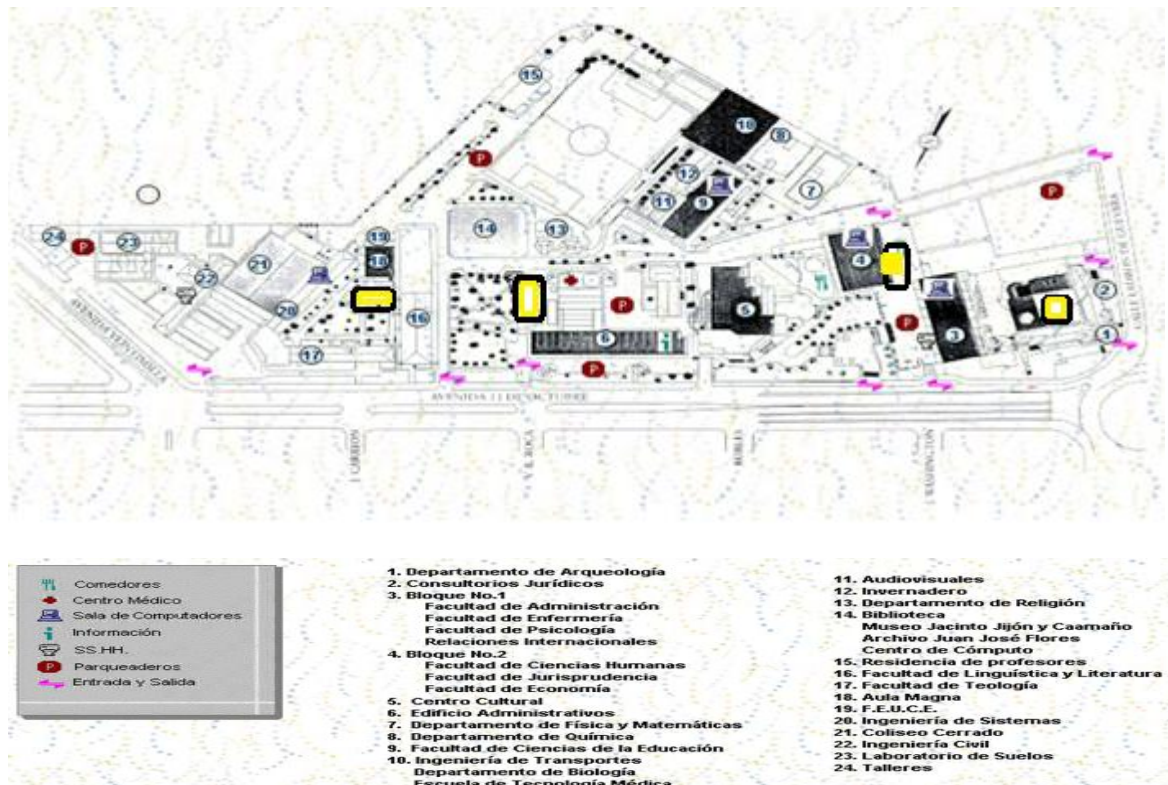
- Incubadora código 02162337
- Congelador código 02250573
- Cocineta código 0226148
- Autoclave
- Balanza granitaria

- Pipeta automática

## 3.2. MÉTODOS

### 3.2.1. ÁREA DE ESTUDIO

Las cafeterías y las muestras pertenecientes a un centro de estudios superiores en la ciudad de Quito (Figura. 3.), se codificaron para guardar absoluta confidencialidad de los resultados obtenidos en este estudio.



**Figura 5.** Plano Campus Centro de educación superior. (Sitios de muestreo color amarillo)

### 3.2.2. RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

#### 3.2.2.1. Codificación

Las cafeterías y las muestras fueron codificadas para guardar absoluta confidencialidad de los resultados obtenidos en este estudio, la codificación incluyó las iniciales del proyecto PAP (Proyecto agua de plata) seguido del número que indica la cafetería muestreada, para la codificación de los manipuladores se utilizó la letra M (Manipuladores) seguida del número que corresponde al orden de muestreo (Ver Anexo 8). Se muestrearon al total de trabajadores involucrados en la manipulación de alimentos en las cuatro cafeterías de una

institución de educación superior PAP 1 (n=14) (Ver Anexo 1), PAP 2 (n=4) (Ver Anexo2), PAP 3 (n=2) (Ver Anexo 3), PAP 4 (n=4) (Ver Anexo 4); teniendo un muestra total n= 24.

Para la toma de muestras de las manos de los manipuladores de alimentos se usó la técnica de enjuague descrita en la Guía técnica para análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas del Perú (Ver Anexo5).

### **3.3. PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

#### **3.3.1. Fase pre analítica**

##### ***3.3.1.1.Preparación hojas de registros***

- Cada cafetería proporcionó los datos de todos sus trabajadores que incluyeron nombres y apellidos completos, función que cumplen en su lugar de trabajo, la existencia o no de carnet de salud vigente entre otros. Estos datos serán considerados para la toma de muestras. (Ver Anexo 6)

##### ***3.3.1.2.Preparación de agua peptonada***

- Preparación de agua peptonada (volumen depende de las muestras que se procesarán). (Ver Anexo 7)
- Llenar frascos de vidrio con 100ml y 90 ml de agua peptonada y autoclavar.
- Trasvasar el agua peptonada, cuando este tibia, de los frascos que contienen 100 ml a fundas Ziploc.
- Rotular el material de trabajo con fecha de preparación.
- Refrigerar el material de trabajo hasta su utilización.

##### ***3.3.1.3.Preparación de material de trabajo***

Autoclavar pipetas serológicas de 10ml, tubos de ensayo con tapa rosca de 20 ml y puntas para pipeta automática.

##### ***3.3.1.4.Preparación de placas Petrifilm***

- Rotular las placas con el código de la cafetería seguido del código de la persona muestreada, tipo de tratamiento que recibe la muestra, fecha de toma de muestra y código del proyecto. (Ver Anexo 8)
- Antes de usarlas dejar a temperatura ambiente durante unos 10 minutos.

### 3.3.2. Fase analítica

#### 3.3.2.1. Toma de muestras

- Se acudió a la cafetería programada para el muestreo llevando el material necesario para la toma de muestras (fundas Ziploc con 100ml en su interior y la nómina de personas que trabajan en dicha cafetería). El muestreo se dió de forma aleatoria para evitar que los operadores tomen medidas preventivas y el muestreo no represente su realidad cotidiana.
- Se llamó a cada uno de los trabajadores y se les realizó un enjuague de aproximadamente 1 minuto de sus dos manos utilizando 100 mL de agua peptonada que se encontraba en la bolsa plástica estéril. (Ver Anexo 9)
- Las muestras fueron rotuladas adecuadamente, las mismas que contaron con el código del sitio donde se colectó de muestra, la fecha de toma de muestra y el código de la persona de la cual procede la muestra.

#### 3.3.2.2. Análisis de las muestras

Las muestras fueron transportadas a temperatura ambiente al laboratorio de Microbiología N° 107 de la carrera de Microbiología de la Escuela de Bioanálisis de la PUCE para su procesamiento inmediato. Para que no se den cambios en la carga microbiana inicial el procesamiento no debe superar los 20 minutos.

De cada bolsa de plástico perteneciente a la muestra de un trabajador se tomaron 10 ml y se colocaron en el frasco de vidrio que contiene los 90 ml de agua peptonada estéril con el fin de realizar y trabajar con la dilución  $10^{-1}$ . (Ver Anexo 10)

Del frasco se tomaron 10 ml para colocarlos en los tubos de ensayo de 20 ml de capacidad, en total se utilizaron 2 tubos y cada uno contuvo 10 ml de la dilución  $10^{-1}$  de la muestra.

En uno de los tubos que contiene los 10 ml de la dilución se colocaron 10 ml del agua de plata de concentración de 4ppm y al otro se le colocó 10 ml del agua de plata de concentración de 10ppm. (Ver Anexo 11)

Con la ayuda de un cronómetro de sembraron en placas Petrifilm para los 3 diferentes indicadores de contaminación: Mesófilos aerobios, Coliformes totales/*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, al minuto y los 5 minutos de contacto de la dilución con las diferentes concentraciones del agua de plata, así como se sembró la dilución sin tratamiento. El volumen que se sembró fue de 1 ml de la dilución con y sin tratamiento.

Posteriormente, las placas fueron incubadas a  $35\pm 2$  °C para los tres indicadores de contaminación, variando el tiempo de incubación siendo 48 horas de incubación para Mesófilos aerobios y 24 horas Coliformes totales/*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* según las indicaciones de cada guía de Placas 3M Petrifilm (3M, 2014). (Ver anexos 12, 13,14)

### **3.3.2.3. Control de calidad**

- **Análisis del agua de plata:** El agua de plata a diferentes concentraciones fue proporcionada de forma gratuita por la empresa ARGENTUM donde se realizaron los controles de calidad respectivos. (Ver Anexo 15)
- **Control de placas 3M Petrifilm y agua de plata:** Para la validación de las Placas 3M Petrifilm y el agua de plata se uso el método de referencia para análisis de desinfectantes (Actividad sanitaria germicida y detergente de los desinfectantes –Método AOAC 960.09 AOAC (Official Method: Germicidal and Detergent Sanitation Action of Desinfectants, 1960). Para la validación tanto de las Placas 3M Petrifilm para los 3 diferentes indicadores de contaminación: Mesófilos aerobios, Coliformes totales/*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, y del agua de plata utilizarán cepas ATCC (*American Type Culture Collection* © 2014) de *Escherichia coli* ATCC35218 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923. (Ver Anexo 16 y 17) Las cepas de colección ATCC fueron enfrentadas a dos concentraciones del agua de plata, 4ppm y 10 ppm, y en los dos tiempos diferentes, 1 minuto y 5 minutos, para cada concentración.
- **Control de calidad de agua peptonada:** Para el control de calidad del agua peptonada se sembró 1 mL sobre Placas 3M Petrifilm para los 3 diferentes indicadores de contaminación: Mesófilos aerobios, Coliformes totales/*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Para el recuento de *Staphylococcus aureus* se utilizó el Sistema de Recuento 3MPetrifilm *Staph Express* el cual contiene las placas y un disco de confirmación el Disco STX 3M. Las placas fueron incubadas a  $35\pm 2$  °C durante 48 horas para Aerobios, 24 horas para Coliformes totales/*Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

## **3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DE LOS DATOS**

Los análisis estadísticos se realizaron con los datos obtenidos después del estudio total, el estudio se lo realizó a nivel individual de cafetería y a un nivel global o macro, es decir, independientemente de la cafetería que se haya tomado la muestra, se usó un diseño de

experimento factorial de dos factores se realizó el Análisis de Varianza (ANOVA) para determinar significancia de los resultados obtenidos, Gráficos de Pareto que muestran en orden creciente la importancia de los factores que se estudiaron (tiempo y concentración). Para todos los análisis estadísticos se utilizó el Software STATGRAPHICS Centurión XVII.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Aislamiento de Mesófilos aerobios, Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* de manos de manipuladores de alimentos pertenecientes a PAP 1, PAP 2, PAP 3 y PAP 4

Antes del tratamiento con agua de plata a las 24 muestras pertenecientes a PAP 1, PAP 2, PAP 3 y PAP 4, comparando con los límites permisibles de contaje total de Mesófilos aerobios (MA) en superficies vivas de < 3000 UFC/mano (Aguayo & Gamboa, 2013), ningún contaje producto del análisis de las muestras se encuentra por debajo del límite permisible de <3000 UFC/mano. El elevado número de aislamientos con contajes superiores a 3000 ufc/mano refleja la calidad sanitaria de un alimento, las condiciones de manipulación así como las condiciones higiénicas de la materia prima. Así como cabe recalcar que un recuento bajo de Mesófilos aerobios no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, así como un recuento elevado no significa presencia de flora patógena (Osorio et al., 2004 & Cabezas et al., 2008).

Se debe tomar en cuenta que el contaje total para Coliformes Totales y *Escherichia. coli* en superficies vivas, deben ser < 100 UFC/mano y ausencia respectivamente según La guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas de Perú (2007), comparando con estos límites el 50 % y el 95.84% de las 24 muestras sembradas mostraron un valor por debajo del límite permisible para superficies vivas, tanto para C. totales, pese a estos resultados se debe considerar que lo más correcto sería la ausencia total de este tipo de indicadores de contaminación. Galindo (2008) asegura que ni el cambio de guantes ni el común lavado de manos después de cada actividad elimina no asegura ni elimina al 100% de estos microorganismos (Ver tabla 3).

En el estudio solo se encontró un caso en las 24 muestras analizadas que presentó el crecimiento de *Escherichia colide* 1 UFC/mano, representando al 4.16% de muestras que incumplió con el requisito de la norma, indicando un problema de deficiente aseo de las manos después de haber tenido contacto con algún tipo de materia fecal representando una fuente de contaminación. Realizar análisis microbiológico en las manos de manipuladores de alimentos permite identificar la presencia de flora patógena con el fin de asegurar todos los estándares de calidad y salubridad necesarios para la manipulación, elaboración y expendio de un producto de consumo masivo buscando disminuir los índices de

enfermedades en el consumidor (Ramírez, L., Ángel, V & Caicedo. D. 2008; Avalos, E., Portillo, D. 2013).

Antes del tratamiento con agua de plata al 100 % de las manos de manipuladores de alimentos, si tenemos en cuenta los límites de contaje total *Staphylococcus aureus* en superficies vivas, deben ser < 100 UFC/mano según la guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas de Perú (MINSa, 2007), comparando con estos límites el 58.33% de las 24 muestras sembradas mostraron un valor por debajo del límite permisible para superficies vivas. Lugo y col. (2006) señalan que la tasa de prevalencia de este microorganismo en manipuladores de alimentos es cercana al 35,6 % por lo cual se le considera un parámetro de estudio para determinar las condiciones sanitarias en las que se procesa un alimento. (Ver tabla 3 y Anexo 21-24)

**Tabla 3.** Resultado del cumplimiento de los requisitos microbiológicos por microorganismo en superficies vivas (n=24)

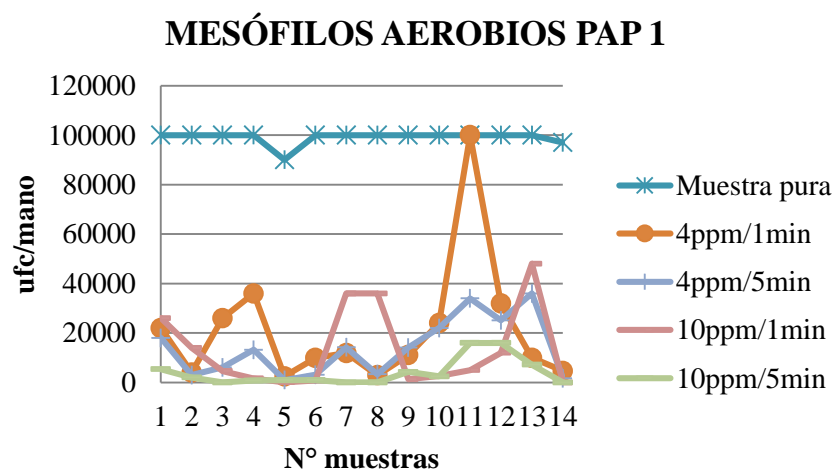
Microorganismo	Requisito microbiológico <sup>1</sup> (ufc/mano)	Log N (ufc/mano)	Cumplimiento
<b>Bacterias aerobias mesófilas</b>	< 3000	< 3.47	0%
<b>Coliformes totales</b>	≤100	< 2	50%
<i>E. coli</i>	Ausencia	-	95.84%
<i>S. aureus</i>	≤100	< 2	58.33%

<sup>1</sup>Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas (2007).

Con los datos obtenidos del análisis de las muestras sin estar sometidas ningún tipo de tratamiento, se pudo observar el comportamiento de las muestras y se procedió a estudiar estadísticamente el problema y así poder ver el efecto que producen las variables que se tomaron en cuenta en este estudio como son el tiempo de contacto (A) y la concentración del agua de plata (B). Lo que se deseó es crear una configuración óptima de los factores que influyen en el modelo, para esto mediante una tabla ANOVA (análisis de varianza) que sirve para determinar la significancia estadística de los efectos, el modelo de regresión estimado y la optimización de los factores principales que consiste en minimizar en promedio la cantidad de bacterias después de aplicar el factor A y B óptimamente.

**4.2. Efecto de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm y tiempos de contacto de 1 minutos y 5 minutos sobre Mesófilos aerobios (MA) aislados de manos de manipuladores de alimentos pertenecientes a PAP 1, PAP 2, PAP 3 y PAP 4.**

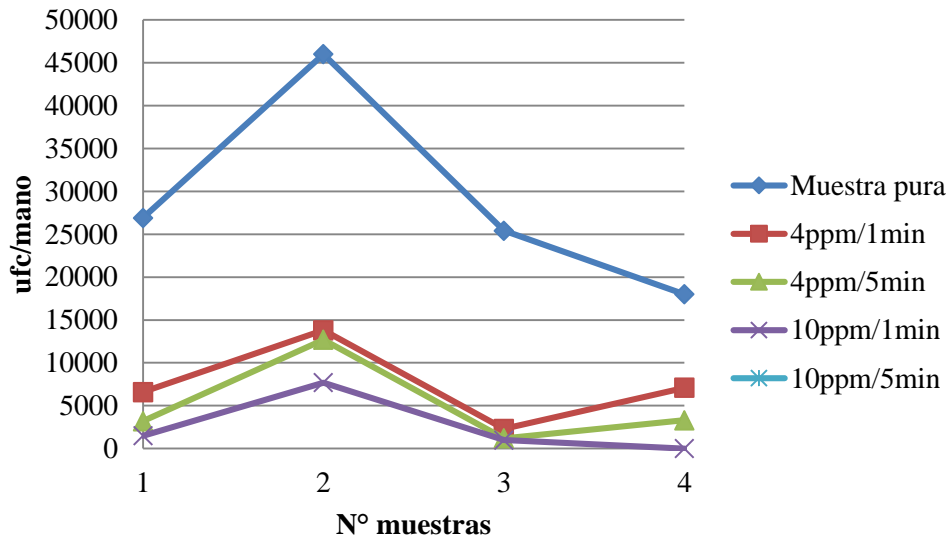
La aplicación del agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm y diferentes tiempos de contacto 1 y 5 minutos, reduce el número de bacterias viables de Mesófilos aerobios presentes en las muestras analizadas como se puede observar en las Figuras 4-7. La variable concentración del agua de plata no ejerce una reducción significativa ( $p>0.05$ ) así como tampoco la relación entre las dos variables del estudio (Tiempo + concentración) ( $p>0.05$ ), se estableció que el parámetro o variable que se relaciona directamente y significativamente ( $p=0.0394$ ) con la reducción o eliminación de la carga bacteriana inicial es el Tiempo (Ver Anexo 18).



Autor: V. Jara S.

**Figura 6. Mesófilos Aerobios PAP1:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.

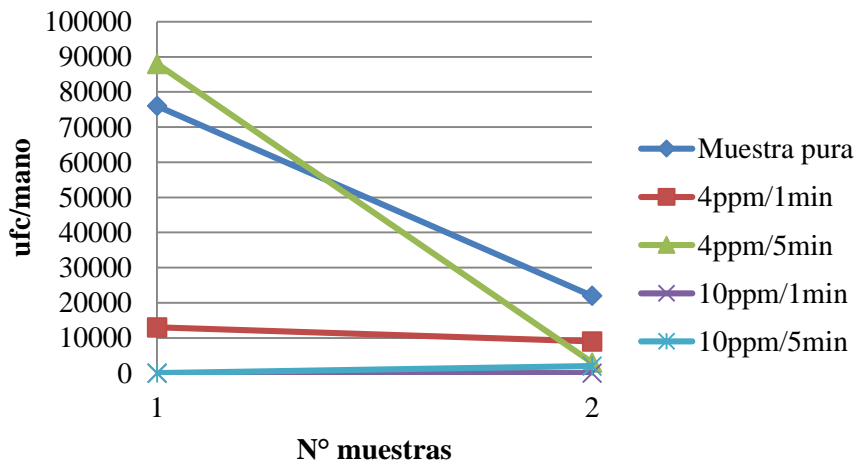
### MESÓFILOS AEROBIOS PAP 2



Autor: V. Jara S.

**Figura 7. Mesófilos Aerobios PAP2:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.

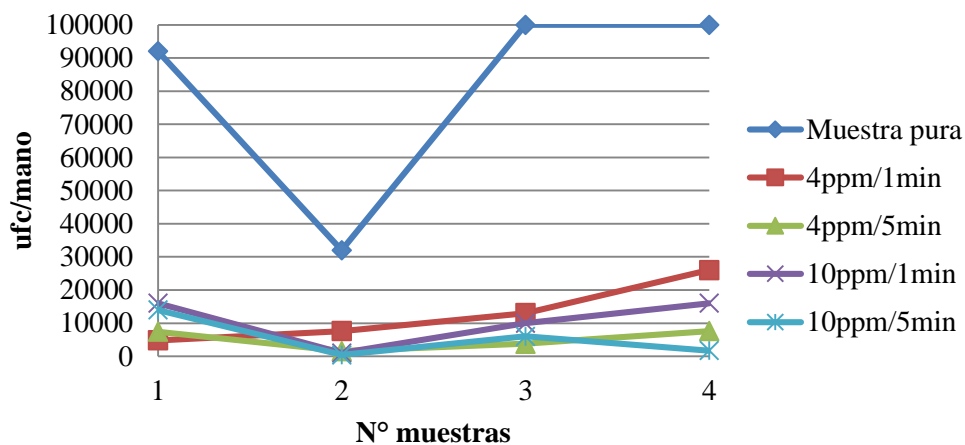
### MESÓFILOS AEROBIOS PAP 3



Autor: V. Jara S.

**Figura 8. Mesófilos Aerobios PAP3:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.

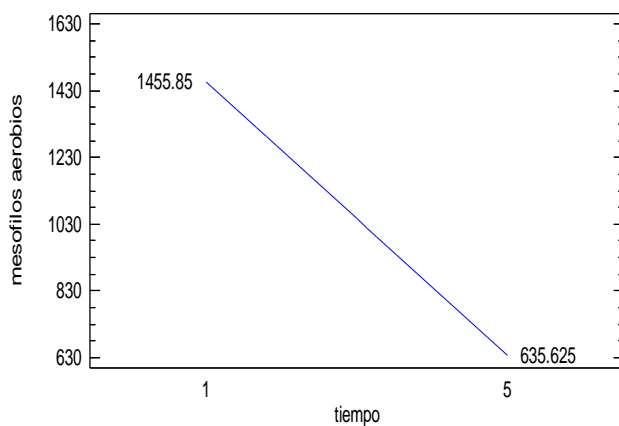
## MESÓFILOS AEROBIOS PAP 4



Autor: V. Jara S.

**Figura 9. Mesófilos Aerobios PAP4:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.

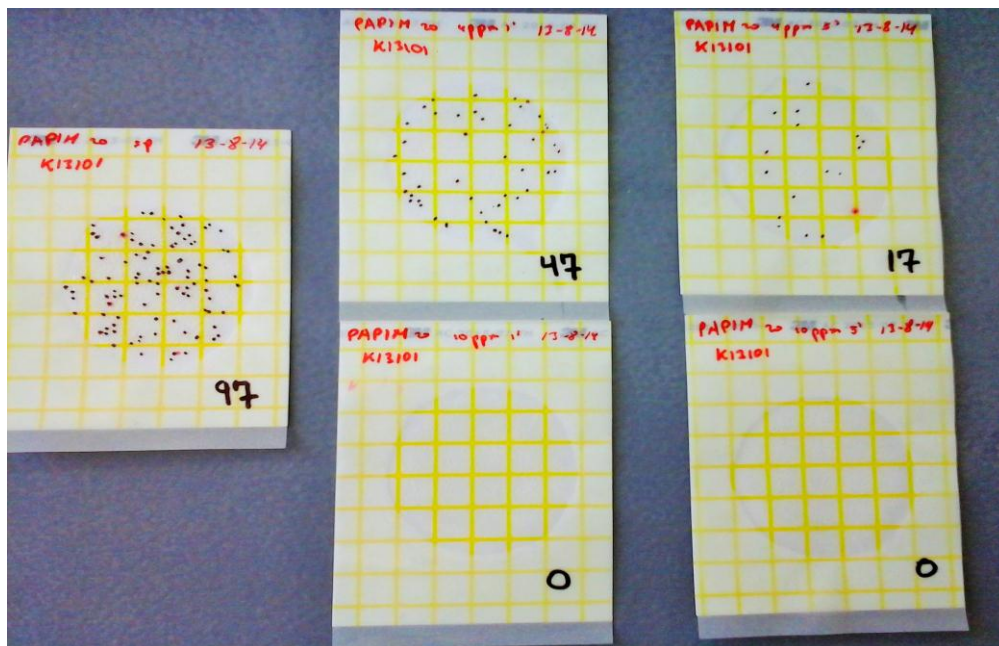
Con los datos obtenidos sabiendo que el valor de  $p < 0.05$  para la variable tiempo se cumple, se procede a relacionar y estimar la reducción de la carga bacteriana en los distintos tiempos de aplicación del agua de plata indicando que la reducción se produciría en 5 minutos siendo este el valor optimo de tiempo de contacto (Fig. 8).



Autor: V. Jara S.

**Figura 10. Grafica de efectos para Mesófilos aerobios:** Relación UFC/mano en relación al tiempo de contacto.

En la Fig. 9 se puede observar un ejemplo de la relación de la carga bacteriana de Mesófilos aerobios recuperados de la muestra pura o sin tratamiento así como la reducción de las mismas en los diferentes tiempos de contacto y concentraciones.



Autor: V. Jara S.

**Figura 11. Placas Petrifilm para conteo de Mesófilos aerobios:** UFC/mano antes (izquierda) y después del tratamiento (derecha) con agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm con tiempos de contacto de 1 y 5 minutos.

Luego del tratamiento con el agua de plata, resultados que se pueden apreciar en la Tabla 4 (sólo en cuanto a Mesófilos aerobios) de estos valores obtenidos de la aplicación del tratamiento podemos observar que el tratamiento que se muestra relativamente efectivo contra MA cuyo número se reduce considerablemente después de su aplicación es el tratamiento de 10 ppm con un tiempo de aplicación de 5 minutos con una diferencia logarítmica de hasta 5 log entre el resultado de la muestra pura y la muestra tratada.

Los datos con mayores diferencias logarítmicas se pueden observar que se los encuentra en los tratamientos con tiempo de contacto de 5 minutos independiente de la concentración del agua de plata.

Los datos de reducción más notoria se encuentran en el tratamiento con agua de plata de 10 ppm a 5 minutos corroborando que el tiempo es el factor influyente en el decrecimiento de carga bacteriana.

**Tabla 4.**Resultados generales de Mesófilos Aerobios presentes en las muestras puras y las muestras bajo tratamiento de agua de plata.

<b>MESÓFILOS AEROBIOS MANIPULADORES</b>															
<b>Sitio de muestreo</b>	<b>N° Muestras Manipuladores</b>	<b>ANTES</b>		<b>DESPUES</b>											
		<b>Muestra pura</b>	<b>Log 10 MP</b>	<b>4ppm</b>						<b>10ppm</b>					
				<b>1 min</b>	<b>Log 10 (a1)</b>	<b>Diferencia de Log 10 (MP-a1)</b>	<b>5 min</b>	<b>Log 10 (a2)</b>	<b>Diferencia de Log 10 (MP-a2)</b>	<b>1 min</b>	<b>Log 10 (a3)</b>	<b>Diferencia de Log 10 (MP-a3)</b>	<b>5 min</b>	<b>Log 10 (a4)</b>	<b>Diferencia de Log 10 (MP-a4)</b>
<b>PAP 1</b>	1	100000	5	22000	4	1	18000	4	1	26000	4	1	5400	4	1
	2	100000	5	4000	4	1	3000	3	2	14000	4	1	2000	3	2
	3	100000	5	26000	4	1	6100	4	1	4600	4	1	1*	0	5
	4	100000	5	36000	5	0	13200	4	1	1600	3	2	800	3	2
	5	90000	5	2500	3	2	1000	3	2	100	2	3	1000	3	2
	6	100000	5	9900	4	1	3100	3	2	800	3	2	1000	3	2
	7	100000	5	11900	4	1	14200	4	1	36000	5	0	1*	0	5
	8	100000	5	2900	3	2	3300	4	1	36000	5	0	1*	0	5
	9	100000	5	11100	4	1	14100	4	1	1300	3	2	4300	4	1
	10	100000	5	24000	4	1	22000	4	1	2600	3	2	2500	3	2
	11	100000	5	100000	5	0	34000	5	0	5000	4	1	16000	4	1
	12	100000	5	32000	5	0	25100	4	1	12000	4	1	16000	4	1
	13	100000	5	10000	4	1	36000	5	0	48000	5	0	7200	4	1
	14	97000	5	4700	4	1	1700	3	2	1*	0	5	1*	0	5
<b>UFC/mano</b>															

\*Los resultados de crecimiento con valor = 0 se reportarán como 1.

**Tabla 4.** Resultados generales de Mesófilos Aerobios presentes en las muestras puras y las muestras bajo tratamiento de agua de plata.

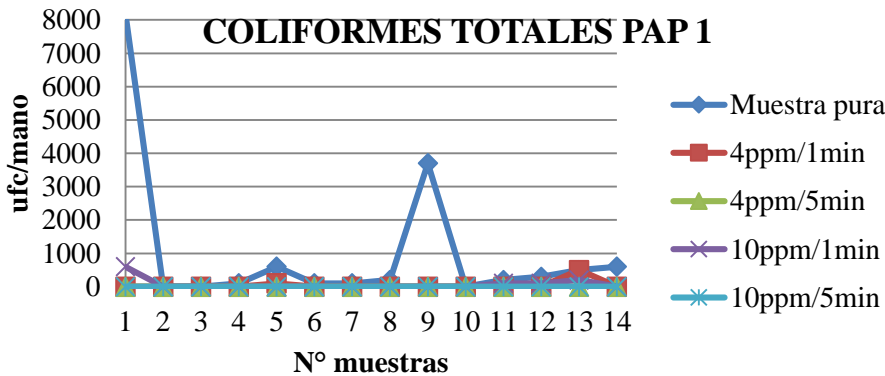
(Continuación)

MESÓFILOS AEROBIOS MANIPULADORES															
Sitio de muestreo	N° Muestras Manipuladores	ANTES		DESPUES											
		Muestra pura	Log 10 MP	4ppm						10ppm					
				1 min	Log 10 (a <sub>1</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>1</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>2</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>2</sub> )	1 min	Log 10 (a <sub>3</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>3</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>4</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>4</sub> )
PAP 2	1	26900	4	6600	4	0	3200	4	0	1500	3	1	1300	3	1
	2	46000	5	13800	4	1	12700	4	1	7700	4	1	7800	4	1
	3	25400	4	2300	3	1	1200	3	1	1000	3	1	1000	3	1
	4	18000	4	7100	4	0	3300	4	0	1*	0	4	6000	4	0
PAP 3	1	76000	5	13000	4	1	88000	5	0	1*	0	5	1*	0	5
	2	22000	4	9000	4	0	3000	3	1	1*	0	4	2000	3	1
PAP 4	1	92000	5	4800	4	1	7400	4	1	16000	4	1	14000	4	1
	2	32000	5	7600	4	1	1600	3	2	1000	3	2	400	3	2
	3	100000	5	13000	4	1	3800	4	1	10000	4	1	6000	4	1
	4	100000	5	26000	4	1	7600	4	1	16000	4	1	1700	3	2
UFC/mano															

\*Los resultados de crecimiento con valor = 0 se reportarán como 1.

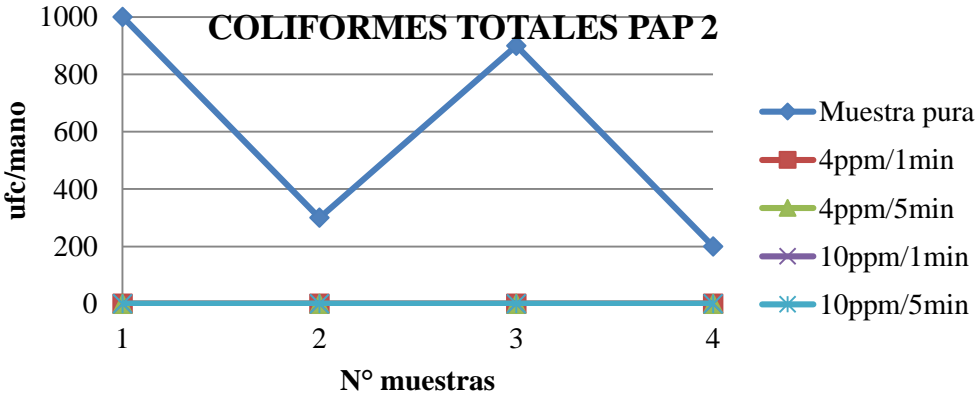
**4.3. Efecto de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm y tiempos de contacto de 1 minutos y 5 minutos sobre Coliformes totales (CT)/*Escherichia coli* aislados de manos de manipuladores de alimentos pertenecientes a PAP 1, PAP 2, PAP 3 y PAP 4.**

Al igual que en el caso de MA, en el análisis estadístico realizado a las diferentes variables del estudio el tiempo es quien se relaciona significativamente ( $p= 0.02$ ) a la reducción de CT, Siendo descartado el efecto independiente de la concentración así como la relación de tiempo + concentración (Fig.10-13.y Anexo 19).



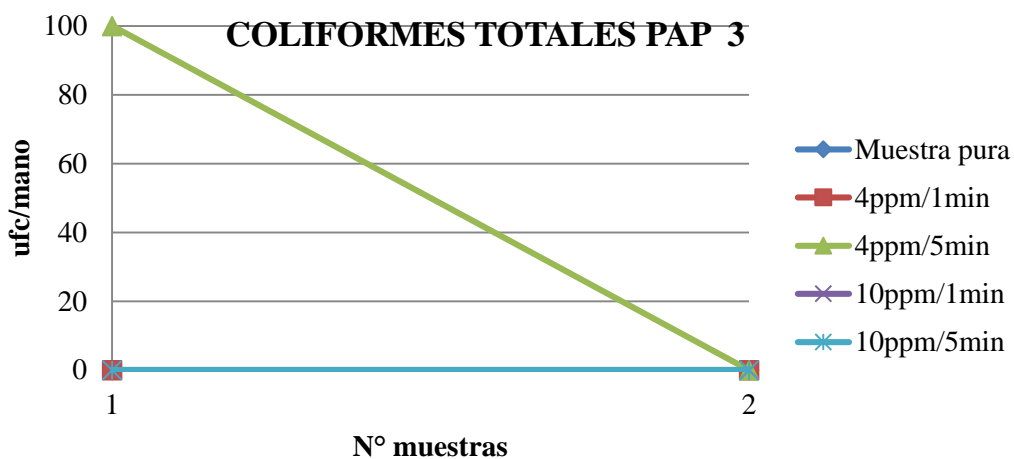
Autor: V. Jara S.

**Figura 12. Coliformes totales PAP1:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.



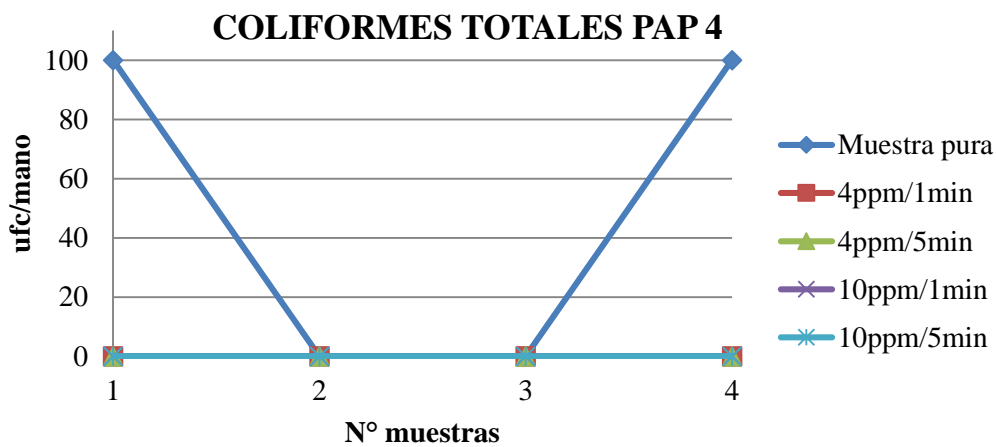
Autor: V. Jara S.

**Figura 13. Coliformes totales PAP2:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.



Autor: V. Jara S.

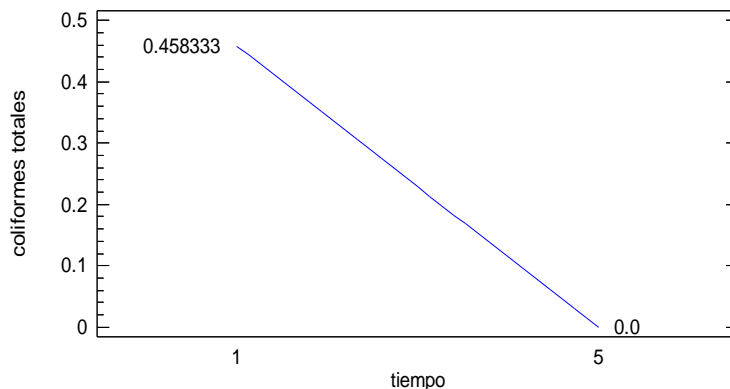
**Figura 14. Coliformes totales PAP3:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.



Autor: V. Jara S.

**Figura 15. Coliformes totales PAP4:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.

Con los datos del análisis estadístico del efecto del tiempo sobre la reducción de las bacterias de interés se realizó la estimación de la reducción con la aplicación del tiempo óptimo (5min) ver Fig. 14. Por tanto para minimizar la cantidad de CT se requiere poner cualquier tipo de concentración por 5 minutos.

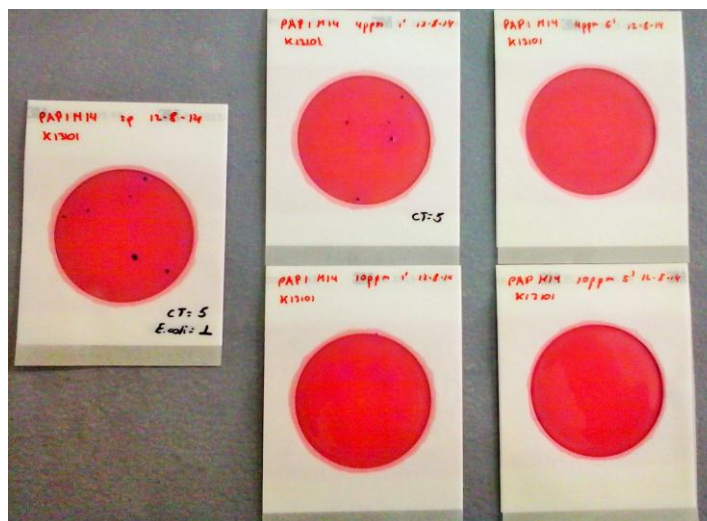


Autor: V. Jara S.

**Figura 16. Grafica de efectos para Coliformes Totales:** Relación ufc/mano en relación al tiempo de contacto.

En la Fig. 15 se puede observar un ejemplo de la relación de la carga bacteriana de Coliformes totales/ *Escherichia coli* recuperados de la muestra pura o sin tratamiento así como la reducción de las mismas en los diferentes tiempos de contacto y concentraciones.

Para el caso de *Escherichia coli* como su presencia fue nula en los manipuladores luego de la aplicación del agua de plata, entonces podemos asumir que el valor óptimo se obtiene al aplicar la mínima concentración al menor tiempo posible.



Autor: V. Jara S.

**Figura 17. Placas Petrifilm para contaje de Coliformes totales:** UFC/mano antes (izquierda) y después del tratamiento (derecha) con agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm con tiempos de contacto de 1 y 5 minutos.

Los datos que se obtuvieron del crecimiento de CT que se indican en la Tabla 5. Revelan que la mayor diferencia de reducción o inhibición de crecimiento del número inicial de contaje y el resultado del contaje de la muestra tratada con el agua de plata, expresada en Log10, es de 3 log 10, datos que se ubican en la variable 10ppm , 5minutos.

**Tabla 5.** Resultados generales de Coliformes totales presentes en las muestras puras y las muestras bajo tratamiento de agua de plata.

COLIFORMES TOTALES MANIPULADORES															
Sitio de muestreo	N° Muestras Manipuladores	ANTES		DESPUES											
		Muestra Pura	Log 10 MP	4ppm						10ppm					
				1 min	Log 10 (a <sub>1</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>1</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>2</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>2</sub> )	1 min	Log 10 (a <sub>3</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>3</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>4</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>4</sub> )
PAP 1	1	100	2	1*	0	2	1*	0	2	6	1	1	1*	0	2
	2	200	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2
	3	300	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2
	4	400	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	5	500	3	100	2	1	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	6	600	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	7	700	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	8	800	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	9	900	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	10	1000	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	11	1100	3	1*	0	3	1*	0	3	1	0	3	1*	0	3
	12	1200	3	1*	0	3	1*	0	3	1	0	3	1*	0	3
	13	1300	3	500	3	0	1*	0	3	2	0	3	1*	0	3
	14	1400	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
<b>UFC/mano</b>															

\*Los resultados de crecimiento con valor = 0 se reportarán como 1.

**Tabla 5.** Resultados generales de Coliformes totales presentes en las muestras puras y las muestras bajo tratamiento de agua de plata.

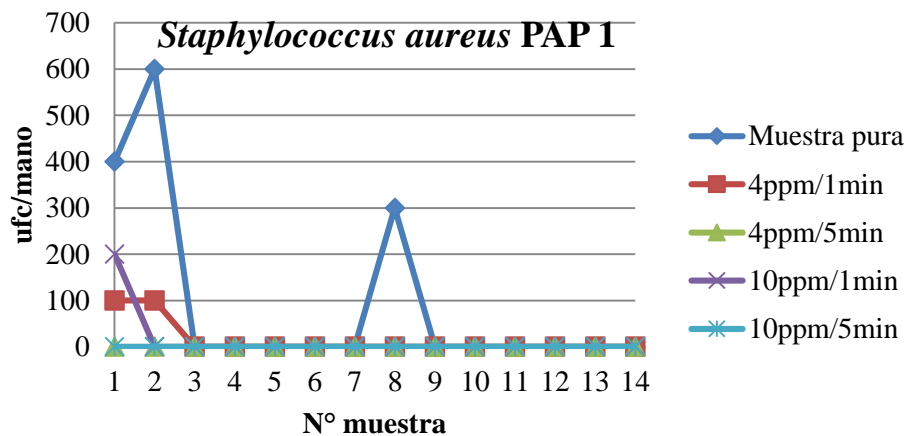
(Continuación)

COLIFORMES TOTALES MANIPULADORES															
Sitio de muestreo	N° Muestras Manipuladores	ANTES		DESPUES											
		Muestra Pura	Log 10 MP	4ppm						10ppm					
				1 min	Log 10 (a <sub>1</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>1</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>2</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>2</sub> )	1 min	Log 10 (a <sub>3</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>3</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>4</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>4</sub> )
PAP 2	1	1000	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	2	300	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2
	3	900	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	4	200	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2
PAP 3	1	1*	0	1*	0	0	100	2	0	1*	0	0	1*	0	0
	2	1*	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0
PAP 4	1	1	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0
	2	1*	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0
	3	1*	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0
	4	1	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0
UFC/mano															

\*Los resultados de crecimiento con valor = 0 se reportarán como 1.

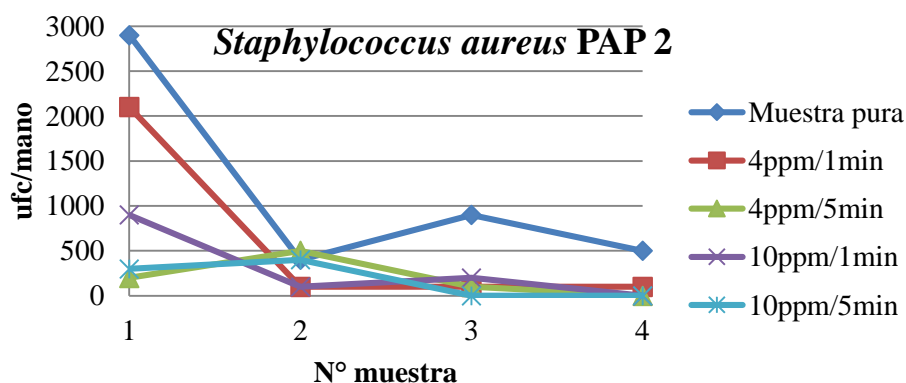
**4.4. Efecto de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm y tiempos de contacto de 1 minutos y 5 minutos sobre *Staphylococcus aureus* (SA) aislados de manos de manipuladores de alimentos pertenecientes a PAP 1, PAP 2, PAP 3 y PAP 4.**

La aplicación del agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm reduce el número de bacterias viables de *Staphylococcus aureus* presentes en las muestras analizadas como se puede observar en las Fig. 16-19.



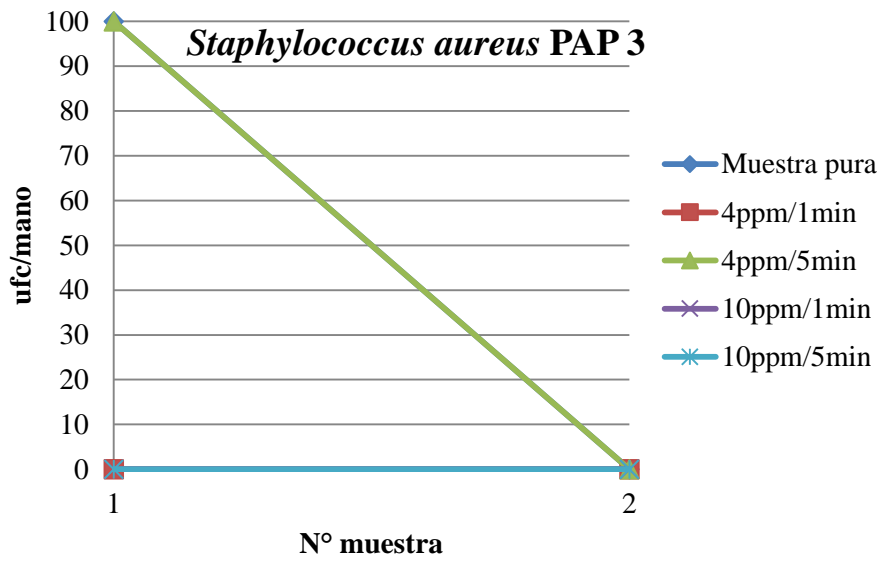
Autor: V. Jara S.

**Figura 18.** *Staphylococcus aureus* PAP1: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.



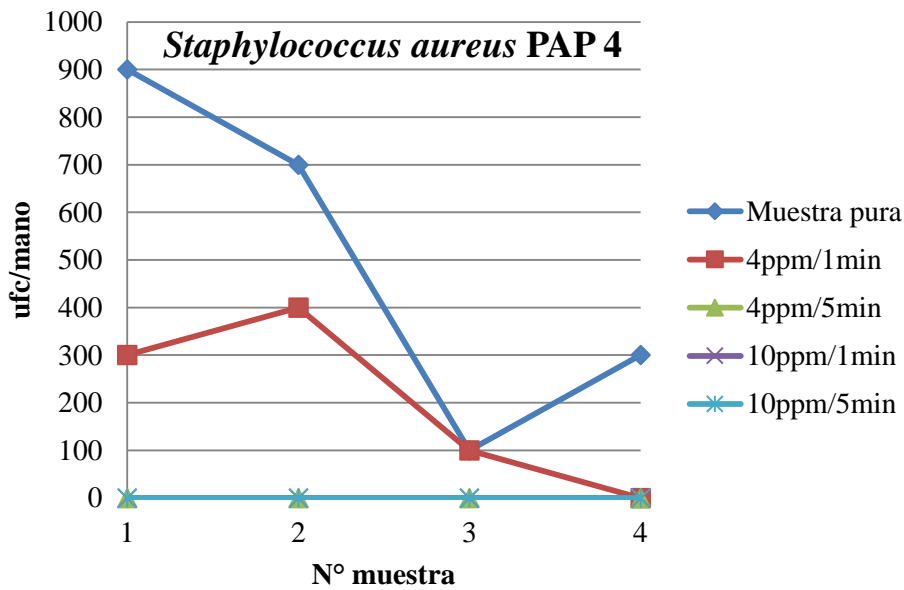
Autor: V. Jara S.

**Figura 19.** *Staphylococcus aureus* PAP2: Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.



Autor: V. Jara S.

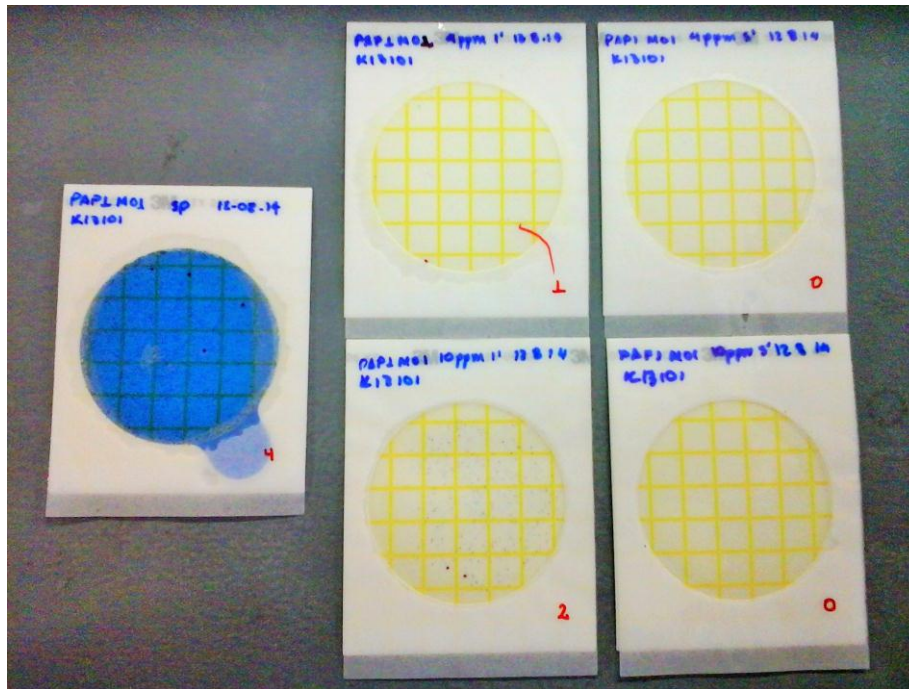
**Figura 20. *Staphylococcus aureus* PAP3:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.



Autor: V. Jara S.

**Figura 21. *Staphylococcus aureus* PAP4:** Actividad bactericida de la aplicación de agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10 ppm a diferentes tiempos 1 minuto y 5 minutos.

En la Fig. 20 se puede observar un ejemplo de la relación de la carga bacteriana de *Staphylococcus aureus* recuperados de la muestra pura o sin tratamiento así como la reducción de las mismas en los diferentes tiempos de contacto y concentraciones.



Autor: V. Jara S.

**Figura 22. Placas Petrifilm para contaje de *Staphylococcus aureus*:** UFC/mano antes (izquierda) y después del tratamiento (derecha) con agua de plata a concentraciones de 4ppm y 10ppm con tiempos de contacto de 1 y 5 minutos.

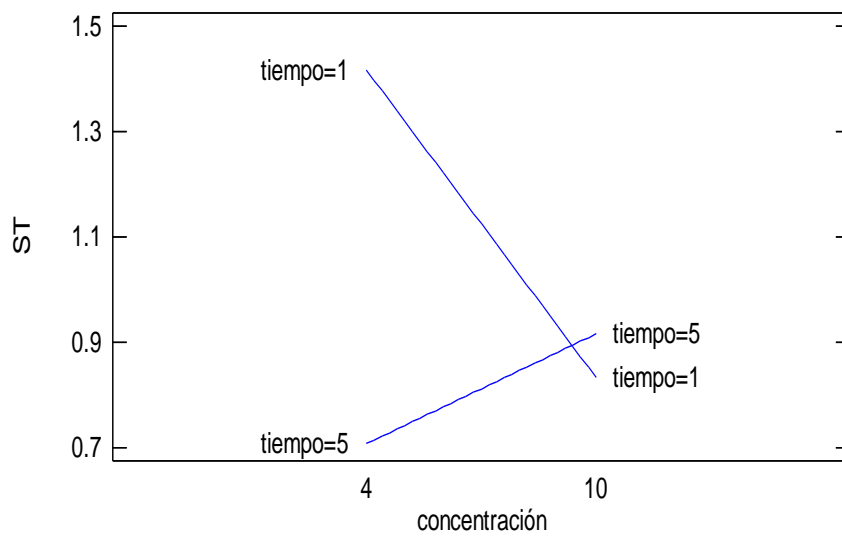
Como se puede observar en el Anexo 20 ningún factor como tiempo (B), concentración (A) ni la relación de A+B tiene un efecto significativo en la reducción de carga bacteriana inicial y después del tratamiento con el agua de plata, pues su valor  $p > 0.05$ .

El total de unidades formadoras de colonias de *Staphylococcus aureus* se redujo hasta 3 log 10 ufc/mano de su contaje inicial indistintamente del tiempo de aplicación y concentración del agua de plata evidenciando lo obtenido en el análisis estadístico (Tabla6).

La eficacia de la aplicación del agua de plata se puede relacionar a la naturaleza o tipo de bacteria, al pertenecer al grupo de Gram positivos, por su estructura de la capa de péptidoglicano previene o dispone el paso de los iones de plata a través de la pared celular bacteriana provocando una lisis celular y un cambio en la densidad electrónica del

citoplasma , estos resultados son constantes en otros estudios realizados como el de Jung, et al 2008, teniendo una reducción logarítmica de hasta 5 log 10 UFC/mano, cabe recalcar que este resultado se obtuvo con una concentración más baja que la utilizada en este estudio (0.2ppm) con un tiempo de contacto de 90 minutos.

En este caso ningún efecto es estadísticamente significativo, la interacción del modelo con todos los factores sería el que se muestra en la Fig. 21.



Autor: V. Jara S.

**Figura 23. Grafica de efectos para *Staphylococcus aureus*:** Relación UFC/mano en relación al tiempo de contacto.

**Tabla 6.** Resultados generales de *Staphylococcus aureus* presentes en las muestras puras y las muestras bajo tratamiento de agua de plata.

<i>Staphylococcus aureus</i> MANIPULADORES															
Sitio de muestreo	N° Muestras Manipuladores	ANTES		DESPUES											
		Muestra pura	Log 10 MP	4ppm						10ppm					
				1 min	Log 10 (a <sub>1</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>1</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>2</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>2</sub> )	1 min	Log 10 (a <sub>3</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>3</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>4</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>4</sub> )
PAP 1	1	100	2	100	2	0	1*	0	2	200	2	0	0	1*	1
	2	200	2	100	2	0	1*	0	2	1*	0	2	0	1*	2
	3	300	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2	0	1*	2
	4	400	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	5	500	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	6	600	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	7	700	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	8	800	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	9	900	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	10	1000	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	11	1100	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	12	1200	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	13	1300	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
	14	1400	3	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3	0	1*	3
UFC/mano															

\*Los resultados de crecimiento con valor = 0 se reportarán como 1.

**Tabla6.** Resultados generales de *Staphylococcus aureus* presentes en las muestras puras y las muestras bajo tratamiento de agua de plata.

(Continuación)

<i>Staphylococcus aureus</i> MANIPULADORES															
Sitio de muestreo	N° Muestras Manipuladores	ANTES		DESPUES											
		Muestra pura	Log 10 MP	4ppm						10ppm					
				1 min	Log 10 (a <sub>1</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>1</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>2</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>2</sub> )	1 min	Log 10 (a <sub>3</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>3</sub> )	5 min	Log 10 (a <sub>4</sub> )	Diferencia de Log 10 (MP-a <sub>4</sub> )
PAP 2	1	2900	3	2100	3	0	200	2	1	900	3	0	300	2	1
	2	400	3	100	2	1	500	3	0	100	2	1	400	3	0
	3	900	3	100	2	1	100	2	1	200	2	1	1*	0	3
	4	500	3	100	2	1	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
PAP 3	1	100	2	1*	0	2	100	2	0	1*	0	2	1*	0	2
	2	1*	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0	1*	0	0
PAP 4	1	900	3	300	2	1	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	2	700	3	400	3	0	1*	0	3	1*	0	3	1*	0	3
	3	100	2	100	2	0	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2
	4	300	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2	1*	0	2
UFC/mano															

\*Los resultados de crecimiento con valor = 0 se reportarán como 1.

## CONCLUSIONES

- Los microorganismos indicadores de contaminación que se aislaron de las manos de manipuladores de alimentos con un rango superior al límite permisible fueron Mesófilos aerobios, evidenciando un incorrecto proceso de higiene de sus manos.
- Los resultados obtenidos en las cuatro cafeterías no reflejaron un predominio de la especie *Escherichia coli* descartando así una contaminación producida por una fuente fecal.
- La presencia de Coliformes en la mitad de las muestras del estudio demuestran que su sistema de higienización no es capaz de mantener este indicador por debajo del límite permisible.
- Los manipuladores presentaron *S. aureus* coagulasa positiva en más del 50% dentro del límite permisible, sin embargo el resto de muestras no alcanzaron este límite y esto se puede deber a que no se usan guantes para las distintas actividades y/o las manos poseían heridas y estas tenían contacto directo con el producto.
- Se determinó la relación que ejerce la variable tiempo, entre el contaje de bacterias Mesófilas aerobias, Coliformes totales y *Escherichia coli* en las muestras antes y después de la aplicación del agua de plata, siendo el factor que provoca este fenómeno independiente de la concentración, pudiendo determinar el tiempo óptimo de contacto en 5 minutos para una reducción significativa de la carga bacteriana inicial y la final.
- Para el caso de *Staphylococcus aureus* antes y después de ser tratada la muestra con agua de plata no existió un factor que provoque este fenómeno que sea de significancia alta, por lo tanto para su reducción no se conoce un tiempo óptimo de contacto ni una concentración específica.

## RECOMENDACIONES

- Realizar estudios acerca de la toxicidad de la plata y los efectos secundarios que conlleva su aplicación tópica a corto y largo plazo sobre superficies vivas.
- Evaluar la actividad bactericida del agua de plata en microorganismos indicadores de contaminación de manos de manipuladores de alimentos aplicando el lavado directo con el agua de plata para ver si el efecto sigue siendo el mismo que el que se obtuvo al tratar la muestra con la metodología descrita en este estudio.
- Realizar pruebas con cepas bacteriana resistentes a antibióticos para evaluar si es factible eliminarlas con distintas dosis de agua de plata.
- El empleo de la solución de ion de plata pueda tener usos valiosos en varios campos, como la desinfección de manos de personas involucradas en cualquier proceso de producción de alimentos para disminuir el riesgo de contaminación por malas prácticas higiénico-sanitarias.

## REFERENCIAS

Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. (s.f). *Manual de Capacitación para Manipuladores de Alimentos*. Recuperado de [http://www.anmat.gov.ar/cuida\\_tus\\_alimentos/manualmanipuladores.pdf](http://www.anmat.gov.ar/cuida_tus_alimentos/manualmanipuladores.pdf)

Aguayo, P., Gamboa, M. (2013). *Implementación de un Plan de Mejoras en Prácticas y Operaciones de Higiene para la Preparación de Alimentos en un Centro Infantil en un Sector del Noroeste de Guayaquil*. (Disertación de pregrado). Recuperado de la Escuela Superior Politécnica del Litoral de la página: <http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/21699>

Almeida, R., Kuaye, A., Serrano, A., & Almeida, P. (1995). Avaliação e controle da qualidade microbiológica de mãos de manipuladores de alimentos. *Rev. Saúde pública*, 29 (4), 290-294. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-89101995000400006>

Álvarez, P. (2014). Protocolo uso de antisépticos y desinfectantes. Recuperado de [http://www.hospitaldemelipilla.cl/~hospital/ckeditor/kcfinder/upload/files/GCL%203.3%20USO%20DE%20ANTISEPTICOS%20Y%20DESINFECTANTES\(8\).pdf](http://www.hospitaldemelipilla.cl/~hospital/ckeditor/kcfinder/upload/files/GCL%203.3%20USO%20DE%20ANTISEPTICOS%20Y%20DESINFECTANTES(8).pdf)

Allegranzi, B., Kilpatrick, C. & Pittet, D. (2011). *Higiene de las manos: Conceptos básicos de control de infecciones de IFIC*. ISBN 978-0-9555861-0-1

Armendáriz, J. (2012). *Seguridad e higiene en la manipulación de alimentos*. 2<sup>da</sup> edición ISBM: 978-84-9732-072-6

Cabezas, C., Alvares, B., Salazar, E., Sánchez-Paredes, V., & Quispe, J. (2008). *Efectividad del uso de alcohol glicerinado para la descontaminación de manos en una población sin acceso al agua potable pos terremoto en Pisco, Perú*. *Revista Perú MedExp Salud Publica*; 25(4): 391-393. Recuperado de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n4/a08v25n4.pdf>

Cabrera, C., Gómez, R. & Zúñiga A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos,

antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia médica*, 38 (2), 149-158. Recuperado de <http://bibliotecadigital.univalle.edu.co/bitstream/10893/4679/1/Resistance%20to%20bacterial.pdf>

Cameán, A., & Repetto, M. (2012). *Toxicología alimentaria*. ISBN: 978-84-9969-208-1

Castro, M. (2013). Evaluación de la eficacia del programa de limpieza y desinfección vigente en el área de pet, de la empresa Envasa S.A. y su aplicabilidad respecto a la normativa de la industria alimenticia y farmacéutica en Costa Rica (Tesis de Maestría). Recuperado de la Universidad para la Cooperación Internacional de la página: <http://www.uci.ac.cr/Biblioteca/Tesis/PFGMIA119.pdf>

Correia, G., Araújo, D., Fernandes, L., Leão de Menezes, P & Pinheiro, P. (2012). Gestión de calidad del servicio de alimentos y bebidas. La importancia del manipulador de alimentos en la calidad del servicio hotelero de la ciudad de João Pessoa, Brasil. *Estudios y Perspectivas en Turismo*, 21(3), 763-777. ISSN 1851-1732

Cosgrove, S.E., & Perencevich, E.N. (2007). Economic Evaluation of Healthcare Associated Infections and Infection Control Interventions. En: J. Bennett, W. Jarvis & P. Brachma (Eds.). *Bennett & Brachman's Hospital Infections*. Recuperado de: [http://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=tuy4zw5G4v4C&oi=fnd&pg=PA235&dq=Economic+Evaluation+of+Healthcare+Associated+Infections+and+Infection+Control+Interventions&ots=\\_Xk7dMCpSK&sig=0B4lwmmMOn0AmDGRVfnrBNoJBmo#v=onepage&q=Economic%20Evaluation%20of%20Healthcare%20Associated%20Infections%20and%20Infection%20Control%20Interventions&f=false](http://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=tuy4zw5G4v4C&oi=fnd&pg=PA235&dq=Economic+Evaluation+of+Healthcare+Associated+Infections+and+Infection+Control+Interventions&ots=_Xk7dMCpSK&sig=0B4lwmmMOn0AmDGRVfnrBNoJBmo#v=onepage&q=Economic%20Evaluation%20of%20Healthcare%20Associated%20Infections%20and%20Infection%20Control%20Interventions&f=false)

CDC. (2002). *Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings: Recommendations of the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee and the HICPAC/SHEA/APIC/IDSA Hand Hygiene Task Force*. *MMWR*, 51(RR-16), 1-48. Recuperado de <http://www.cdc.gov/mmwr/pdf/rr/rr5116.pdf>

Coehlo, MS., Silva, C. &Faria, SM. (2011). Higiene de manos como estrategia fundamental en el control de infección hospitalaria: un estudio cuantitativo. *Enfermería global* 10 (21) ,1-12. ISSN 1695-6141

Cortez, R. (2010). *Análisis del efecto bactericida de las nanopartículas de plata por medio de métodos ópticos* (Disertación de licenciatura).Recuperada de Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo de la página:

<http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/jspui/bitstream/123456789/3606/1/ANALISISDELEFECTOBACTERICIDADELASNANOPARTICULASDEPLATAPORMEDIODE%20METODOSOPTICOS.pdf>

Davies, R. &Etris, S. (1997). The development and functions of silver in water purification and disease control. *CatalysisToday*, 36(1), 107-114.doi: 10.1016/S0920-5861(96)00203-9

Di Pietro, S., Haritchabalet, K., Cantoni, G., Iglesias, L., Mancini, S., Temperoni, A.,...Larrieu, E. (2004). Vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos en la Provincia de rio negro, Argentina, 1993-2001.*Medicina*, 64, 120-124. ISSN 0025-7680

Dirección General para la Salud Pública. (2012).Guía del Manipulador de Alimentos. I.S.B.N.: 84-482-2650-X

Domínguez, L& Ros, C. (2007). Manipulador de alimentos. La importancia de la higiene en la elaboración y servicio de comida. ISBN: 978-84-9839-061-2

FDA. (2014).*Seguridad alimentaria para futuras mamás: Profesionales de la medicina - Los14 Patógenos principales transmitidos por los alimentos*. Recuperado de<http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/HealthEducators/ucm091976.htm>

Galindo, C., (2008). *Evaluación del lavado de manos y uso de guantes como medidas de higiene durante el rebanado y empaclado de productos listos para consumir*. (Tesis de Pregrado) Recuperado de la Universidad de Zamorano de la página: <http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/157/1/T2581.pdf>

Gibbins, B. (2005). *SilvaGard Antimicrobial Silver Nanotechnology Treatment for Medical Devices*. Recuperado

de <http://www.acrymed.com/pdf/SilvaGard%20Technical%20Summary.pdf>

Hernández, E & Portillo, D. (2013). Propuesta de buenas prácticas higiénicas de elaboración de alimentos en el servicio de alimentación del departamento de nutrición del hospital nacional rosales de san salvador. Tesis de química y farmacia). Recuperado de <http://ri.ues.edu.sv/4336/1/16103380.pdf>

Hernández, D. (2014). Susceptibilidad bacteriana frente a cuatro soluciones germicidas. (Tesis de Medicina). Recuperado de la Universidad de Tolima de la página:

<http://repository.ut.edu.co/bitstream/001/1199/1/RIUT-HAA-spa-2014-%20Susceptibilidad%20Bacteriana%20Frente%20A%20Cuatro%20Soluciones%20Germicidas.pdf>

Hennekinne, J., De Buyser M., & Dragacci, S. (2012). *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev.*, 36(4), 815-36. DOI: 10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x

Heymann, D. (2005). Control de las enfermedades transmisibles. Recuperado de [http://books.google.com.ec/books?id=\\_zgiDVj-  
ws4C&pg=PA386&dq=intoxicaciones+alimentarias&hl=es&sa=X&ei=9gkyVPueGY6jyAT  
yi4LIBA&ved=0CCsQ6AEwAg#v=onepage&q=intoxicaciones%20alimentarias&f=false](http://books.google.com.ec/books?id=_zgiDVj-ws4C&pg=PA386&dq=intoxicaciones+alimentarias&hl=es&sa=X&ei=9gkyVPueGY6jyATyi4LIBA&ved=0CCsQ6AEwAg#v=onepage&q=intoxicaciones%20alimentarias&f=false)

INPPAZ - OPS – OMS. (2001). *Guía Veta: Guía de Sistemas de Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (VETA) y la Investigación de brotes*.

Recuperado de

[http://epi.minsal.cl/epi/html/software/guias/Veta/E/anexo\\_i.htm](http://epi.minsal.cl/epi/html/software/guias/Veta/E/anexo_i.htm)

Jung, W, Koo, H., Kim, K., Shin, S., Kim, S., & Park, Y. (2008). Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (7), 2171–2178. doi:10.1128/AEM.02001-07

Kehr, A. (2012). Norma antiséptico y desinfectante. Recuperado de

<http://protocolos.cl/protocolos/filesprotocolos/HCUM015%20GCL%2033-20130118-100728.pdf>

Lantagne, D. (2001). Investigation of the Potters for Peace: Colloidal Silver Impregnated Ceramic Filter: Report 1: Intrinsic Effectiveness. Recuperado de <http://web.mit.edu/watsan/Docs/Other%20Documents/ceramicpot/PFP-Report1-Daniele%20Lantagne,%2012-01.pdf>

Lugo, N., Villalobos, L., Martínez, N. (2006). Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumana – Venezuela. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* v.26 n.2. ISSN 1315-2556

Martínez, M. (2013). Guía de antisépticos y desinfectantes. Recuperado de [http://publicacionesoficiales.boe.es/index.php?frases=no&sf=busqueda&sfstype=sencilla&datos%5B0%5D=GU%CDA+DE+ANTIS%C9PTICOS++Y+DESINFECTANTES&campos%5B0%5D=publicacion&accion=Buscar&campos%5B1%5D=publicacion.descarga\\_fichero](http://publicacionesoficiales.boe.es/index.php?frases=no&sf=busqueda&sfstype=sencilla&datos%5B0%5D=GU%CDA+DE+ANTIS%C9PTICOS++Y+DESINFECTANTES&campos%5B0%5D=publicacion&accion=Buscar&campos%5B1%5D=publicacion.descarga_fichero)

Ministerio de Salud: Dirección general de servicios de salud: Normativa-003. (2008). Norma técnica y guía para el uso de antisépticos, desinfectantes e higiene de manos. Recuperado de [http://www.maternoinfantil.org/archivos/smi\\_D247.pdf](http://www.maternoinfantil.org/archivos/smi_D247.pdf)

MINSA. (2007). Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas: Resolución ministerial N° 461. Recuperado de [http://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas\\_Legales/alimentos/RM\\_461\\_2007.pdf](http://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM_461_2007.pdf)

Madigan, M.T., Martinko, J.M., & Parker, J. (2003). *Brock biology of microorganisms*. ISBN: 84-205-3679-2

Ministerio de Salud Pública del Ecuador (2008). Indicadores Básicos de Salud. Recuperado de [http://www.paho.org/ecu/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_download&gid=82&Itemid=](http://www.paho.org/ecu/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=82&Itemid=)

MSP. (2012a). MSP conmemora el Día Mundial del Lavado de Manos con consejos de salud. Recuperado de <http://hvcm.gob.ec/msp-conmemora-el-dia-mundial-del-lavado-de-manos-con-consejos-de-salud/>

MSP. (2012b). *Dirección provincial de salud de santo domingo de los Tsáchilas: Proceso de vigilancia y control sanitario Subproceso de alimentos y afines*. Recuperado de [http://instituciones.msp.gob.ec/dps/santo\\_domingo/images/stories/manual\\_de\\_transporte\\_de\\_alimentos.pdf](http://instituciones.msp.gob.ec/dps/santo_domingo/images/stories/manual_de_transporte_de_alimentos.pdf)

MSP. (2014). Subsecretaría de Vigilancia de la Salud Pública, Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. *Gaceta epidemiológica semanal*, 37. Recuperado de [http://instituciones.msp.gob.ec/images/Documentos/Ministerio/EPIDEMIOLOGIA/gaceta2014/Gaceta%20N%2037%20SE%2038\\_opt.pdf](http://instituciones.msp.gob.ec/images/Documentos/Ministerio/EPIDEMIOLOGIA/gaceta2014/Gaceta%20N%2037%20SE%2038_opt.pdf)

Ministerio de Salud Pública de Chile. (2013). Reglamento Sanitario de los alimentos dto. N° 977/96 (d.of. 13.05.97). Recuperado de [http://web.minsal.cl/sites/default/files/2013RSADECRETO\\_977\\_96\\_actualizado2013.pdf](http://web.minsal.cl/sites/default/files/2013RSADECRETO_977_96_actualizado2013.pdf)

Monge, M. (2009). Nanopartículas de plata: métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas. *An. Quim.*, 105 (1) ,33–41. Recuperado de: [dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2931286](http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2931286)

Morones, R. (2009). El uso de la plata en los antibióticos del futuro. *Revista Digital Universitaria*, 10(10), 10-1. Recuperado de <http://www.revista.unam.mx/vol.10/num10/art69/art69.pdf>

Negroni, M. (2009). *Microbiología estomatológica: Fundamentos y guía práctica* (2da Ed.). Recuperado de [http://books.google.com.ec/books?id=Gxmui-vjZBgC&pg=PA121&lpg=PA121&dq=Microbiologia+estomatol%C3%B3gica:+Fundamentos+y+gu%C3%ADa+pr%C3%A1ctica&source=bl&ots=QlGuiEH5pV&sig=wXVMGNkuEbkY\\_QptzPHnSEUaFqY&hl=es&sa=X&ei=FBgVVLbHMbHisASxxYEG&ved=0CCoQ6](http://books.google.com.ec/books?id=Gxmui-vjZBgC&pg=PA121&lpg=PA121&dq=Microbiologia+estomatol%C3%B3gica:+Fundamentos+y+gu%C3%ADa+pr%C3%A1ctica&source=bl&ots=QlGuiEH5pV&sig=wXVMGNkuEbkY_QptzPHnSEUaFqY&hl=es&sa=X&ei=FBgVVLbHMbHisASxxYEG&ved=0CCoQ6)

AEwAg#v=onepage&q=Microbiologia%20estomatol%C3%B3gica%3A%20Fundamentos%20y%20gu%C3%ADa%20pr%C3%A1ctica&f=false

OMS. (2014). *Inocuidad de los alimentos*. Recuperado de [http://www.who.int/topics/food\\_safety/es/](http://www.who.int/topics/food_safety/es/)

OPS. (2012). Ecuador. 273-288. Recuperado de [http://www.paho.org/saludenlasamericas/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&gid=202&Itemid=](http://www.paho.org/saludenlasamericas/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=202&Itemid=)

Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2002). *La salud en las Américas*. Recuperado de [https://www.google.com.ec/webhp?source=search\\_app&gfe\\_rd=cr&ei=gABXVLXqJuuw8we96IGwDQ&gws\\_rd=ssl#ISBN 92 75 31587 6](https://www.google.com.ec/webhp?source=search_app&gfe_rd=cr&ei=gABXVLXqJuuw8we96IGwDQ&gws_rd=ssl#ISBN%2092%2075%2031587%206)

Osorio, L., Hernández, E., Fajardo, E., Mejía, V, & Anaya, U. (2004). *Eficacia del lavado de manos y alcohol glicerinado en personal de salud*. Revista Medica IMSS; 42 (3): 205-210. Recuperado de <http://www.bvsde.paho.org/bvsacd/cd30/eficacia.pdf>

Pancorbo, F. (s.f). *Desinfección del Agua Mediante Procedimientos Electrofísicos Cobre/Plata*. Recuperado de <http://dspace.universia.net/bitstream/2024/233/1/DESINFECCION+DEL+AGUA+MEDIANTE+COBRE-PLATA.pdf>

Parham, P. (2006). *Inmunología* .Medica Panamericana (2) ,3 - 6 ISBN 950-06-1882-6  
Ramírez, L., Ángel, V & Caicedo, D. (2008). *Ciencias biomédica*, 101-212. ISSN: 1794-2470. Recuperado de [http://www.unicolmayor.edu.co/invest\\_nova/NOVA/NOVA9\\_ART2\\_SNELLA.pdf](http://www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/NOVA/NOVA9_ART2_SNELLA.pdf)

Rayman, M., Lo, T., & Sanwal, B. (1972). Transport of succinate in Escherichia coli. II.

Characteristics of uptake and energy coupling with transport in membrane preparations. *The Journal of Biological Chemistry*, 247(19), ISSN 6332-6339. Recuperado de [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4568614](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4568614)

Russell, A., & Hugo, W. (1994). Antimicrobial Activity and Action of Silver. En: G. Ellis & D. Luscombe (Eds.) *Progress in Medicinal Chemistry-Vol.31*. Recuperado de [http://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=5\\_7mxy2G9a0C&oi=fnd&pg=PA351&dq=Antimicrobial+Activity+and+Action+of+Silver.+Progress+in&ots=Uz9J35Bg4D&sig=Qpp66sK6KgQ0cOCg\\_qNyvdo5Enw#v=onepage&q=Antimicrobial%20Activity%20and%20Action%20of%20Silver.%20Progress%20in&f=false](http://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=5_7mxy2G9a0C&oi=fnd&pg=PA351&dq=Antimicrobial+Activity+and+Action+of+Silver.+Progress+in&ots=Uz9J35Bg4D&sig=Qpp66sK6KgQ0cOCg_qNyvdo5Enw#v=onepage&q=Antimicrobial%20Activity%20and%20Action%20of%20Silver.%20Progress%20in&f=false)

Schreurs, W., & Rosenberg, H. (1982). Effect of silver ions on transport and retention of phosphate by *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology*, 152(1), 7–13. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC221367/>

Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. (2006). La contaminación cruzada. Recuperado de <http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=890&io=4185>

Sánchez, L. (2005). *Legionella* y la ionización metálica cobre – plata. Recuperado de [http://www.inive.org/members\\_area/medias/pdf/Inive/climamed/24.pdf](http://www.inive.org/members_area/medias/pdf/Inive/climamed/24.pdf)

Sartor, C., Jacomo, V., Duvivier, C., Tissot-Dupont, H., Sambuc R., & Drancourt, M. (2000). Nosocomial *Serratia marcescens* infections associated with extrinsic contamination of liquid nonmedicated soap. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 21(3), 196-199. DOI: 10.1086/501743

Simonetti, N., Simoneyti, G., Bougnol, F., & Scalzo, M. (1992). Electrochemical Ag<sup>+</sup> for Preservative Use. *Applied and Environmental Microbiology*, 12, 3834-3836. Recuperado de <http://aem.asm.org/content/58/12/3834.short>

Sondi, I. & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on *E. coli* as a model for Gram-negative bacteria. *Journal of Colloid and Interface Science*, 275(1), 177-182. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.02.012

Soto, I., Montero, S., Arguello, W., Agüero, M., Quiros., Fonseca, C.,... Chinchilla, A. (2001). Guía institucional para el uso de antisépticos y desinfectantes. Recuperado de <http://www.binasss.sa.cr/desinfectantes>

Suanca, C. (2008). *Diseño de un programa de limpieza y desinfección para la “casa de banquetes Gabriel”, actual administradora de casino de la empresa Algarra S.A* (Disertación de licenciatura). Recuperado de la Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia de la página:[www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis141.pdf](http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis141.pdf)

Tancara, L. (2010). Factores que influyen en el manejo de antisépticos y desinfectantes por el personal profesional de enfermería para estandarizar estas sustancias químicas en el hospital Materno infantil los andes, primer trimestre gestión 2008 (Tesis de Maestría). Recuperado de la Universidad Mayor de San Andrés de la página:  
<http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/3658/1/T-PG-663.pdf>

Tenemaza, E. (201). Evaluación del comportamiento del manipulador de alimentos en el cumplimiento de medidas de higiene y manipulación en los servicios de alimentación centro cultural y administrativo de la pontificia universidad católica del ecuador y su relación con la presencia de alteraciones gastrointestinales durante los meses de noviembre – diciembre, 2013. (Disertación de Licenciatura) Recuperado de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de la página:  
<http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/7539/8.29.000807.pdf?sequence=4&isAllowed=y>

Valdivieso, L. (2008). Análisis de las normas de buenas prácticas de Manufactura y su aplicación en las plantas procesadoras de alimentos de la provincia de Imbabura 2008. (Disertación de Tecnología). Recuperado de la Universidad Técnica del Norte de la pagina:<http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/3530/1/06%20TSA%20015%20TESIS.pdf>

Valle, G. (Ed.). (1957). Química descriptiva de los elementos de transición: Una revisión de los compuestos binarios.  
<http://books.google.com.ec/books?id=w3d-GDGFWQC&pg=PP6&lpg=PP6&dq=Qu%C3%ADmica+Descriptiva+de+Los+Elementos+>

de+Transici%C3%B3n:+Una+Revisi%C3%B3n+de+Los+Compuestos+Binarios.&source=bl&ots=OhS\_WIO\_1-  
&sig=D6wUxRh3M9\_cQdJRFU3eFY0OT6c&hl=es&sa=X&ei=wwhXVOaPOcGkgwTHpIT4CQ&ved=0CB0Q6AEwAA#v=onepage&q=Qu%C3%ADmica%20Descriptiva%20de%20Los%20Elementos%20de%20Transici%C3%B3n%3A%20Una%20Revisi%C3%B3n%20de%20Los%20Compuestos%20Binarios.&f=false

Vidal, S. (2010). *Evaluación de la Efectividad del Filtro a Base de Arcilla y Plata Coloidal en la Potabilización de Agua, Medida por pruebas Fisicoquímicas y Microbiológicas*. (Disertación de Tecnología). Recuperado de la Universidad Tecnológica de Pereira de la página:<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/2086/1/628352V648.pdf>

Villagómez, G. (2011). *Propuesta de mejoramiento para la seguridad alimentaria en los restaurantes de la ciudad de Otavalo*. (Disertación de Ingeniería). Recuperado de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede-Ibarra de la página:<http://dspace.pucesi.edu.ec/bitstream/11010/101/1/T72555.pdf>

World Health Organization (WHO). (2009a). Hand hygiene technique with an alcohol-Based formulation. Recuperado de [http://www.who.int/gpsc/5may/tools/system\\_change/en/index.html](http://www.who.int/gpsc/5may/tools/system_change/en/index.html)

WHO. (2009b). Hand washing technique with soap and water. Recuperado de [http://www.who.int/gpsc/5may/tools/system\\_change/en/index.html](http://www.who.int/gpsc/5may/tools/system_change/en/index.html)

## ANEXOS

### Anexo 1: Codificación manipuladores PAP1

<b>Codificación</b>	<b>Nombre de persona muestreada</b>
<b>M1</b>	AE
<b>M2</b>	AR
<b>M3</b>	TG
<b>M4</b>	CR
<b>M5</b>	CE
<b>M6</b>	HW
<b>M7</b>	GA
<b>M8</b>	GV
<b>M9</b>	LP
<b>M10</b>	MR
<b>M12</b>	RR
<b>M13</b>	RO
<b>M14</b>	CA
<b>M20</b>	RG

## **Anexo 2: Codificación manipuladores PAP2**

<b>Codificación</b>	<b>Nombre de persona muestreada</b>
<b>M1</b>	<b>RJ</b>
<b>M2</b>	<b>PS</b>
<b>M3</b>	<b>VS</b>
<b>M4</b>	<b>EG</b>

### **Anexo 3: Codificación manipuladores PAP3**

<b>Codificación</b>	<b>Nombre de persona muestreada</b>
M1	PS
M2	RR

#### **Anexo 4: Codificación manipuladores PAP4**

<b>Codificación</b>	<b>Nombre de persona muestreada</b>
M1	AS
M2	SZ
M3	JR
M4	SV

## Anexo 5: Selección del método de muestreo. Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas

El Peruano	
Lima, jueves 7 de junio de 2007	
NORMAS LEGALES	
346583	
<p>como Jefe del Instituto de Desarrollo de Recursos Humanos, por las razones expuestas en la parte considerativa de la presente Resolución, dándosele las gracias por los servicios prestados.</p>	<p>SE RESUELVE:</p>
<p>ALAN GARCÍA PÉREZ Presidente Constitucional de la República</p>	<p><b>Artículo 1°.-</b> Aprobar la "Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas", que consta catorce (14) folios y que forma parte integrante de la presente resolución.</p> <p><b>Artículo 2°.-</b> La Oficina General de Comunicaciones publicará la mencionada Guía Técnica en el Portal del Internet del Ministerio de Salud.</p>
	<p>Regístrese, comuníquese y publíquese.</p>
	<p>CARLOS VALLEJOS SOLOGUREN Ministro de Salud</p>
	<p>69199-1</p>
<p><b>Aprueban "Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas"</b></p>	<p><b>Aprueban Documento Técnico: Plan Nacional de Prevención y Control de la Transmisión Madre Niño del VIH y Sífilis</b></p>
<p><b>RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 461-2007/MINSA</b></p>	<p><b>RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 463-2007/MINSA</b></p>
<p>Lima, 5 de junio del 2007</p>	<p>Lima, 5 de junio del 2007</p>
<p>Visto: el Expediente N° 06-066910-001, que contiene el Memorándum N° 8358-2006-DG/DIGESA, presentado por la Dirección General de Salud Ambiental;</p>	<p>Visto: el Expediente N° 07-043201-DGSP/MINSA;</p>
<p>CONSIDERANDO:</p>	<p>CONSIDERANDO:</p>
<p>Que, el Artículo 92° de la Ley N° 26842, Ley General de Salud dispone que la Autoridad de Salud de nivel nacional es la encargada del control sanitario de los alimentos y bebidas;</p>	
<p>Que, el Artículo 2° del Reglamento sobre Vigilancia y Control Sanitario de Alimentos y Bebidas, aprobado por Decreto Supremo N° 007-98-SA dispone que todo alimento y bebida o materia prima debe responder a sus caracteres organolépticos, composición química y condiciones microbiológicas;</p>	
<p>Que, mediante Resolución Ministerial N° 410-2006/MINSA del 2 de mayo de 2006, dispuso que la Oficina General de Comunicaciones publique en el portal de internet del Ministerio de Salud, hasta por un periodo de treinta (30) días naturales, el proyecto de la Guía Técnica sobre Criterios y Procedimientos para el Examen Microbiológico de Superficies en relación con Alimentos y Bebidas, para recepcionar las sugerencias o recomendaciones que pudieran contribuir a su perfeccionamiento;</p>	
<p>Que, habiendo culminado dicho plazo, el grupo técnico conformado por representantes de las Direcciones de Salud, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición del Instituto Nacional de Salud, Certificaciones del Perú y Laboratorios acreditados, han evaluado y consolidado las sugerencias o recomendaciones presentadas por los recurrentes;</p>	
<p>Que, el citado proyecto de Guía Técnica, propone regular un aspecto técnico normativo, estandarizando y uniformizando los procedimientos que se deben aplicar en la selección, toma de muestras y ensayos microbiológicos, estableciendo los límites microbiológicos destinados a evaluar las condiciones higiénicas sanitarias de las superficies vivas e inertes que entran en contacto con los alimentos y bebidas;</p>	
<p>Con la opinión favorable de la Dirección General de Salud Ambiental;</p>	
<p>Con el visado del Viceministro de Salud, la Directora General de Salud Ambiental y el Director General de la Oficina General de Asesoría Jurídica; y,</p>	
<p>De conformidad con lo previsto en el Artículo 8° literal l) de la Ley N° 27657, Ley del Ministerio de Salud;</p>	

## Selección del método de muestreo

### Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas (Continuación).

MÉTODO DE MUESTREO	SUPERFICIES A MUESTREAR
<b>Método del Hisopo</b>	Se utiliza para superficies inertes regulares e irregulares, tales como tabla de picar, bandejas, mesas de trabajo, utensilios, cuchillas de equipos, cortadora de embutidos, cortadora de pan de molde, fajas transportadoras, tolvas, mezcladoras, pisos, paredes y otros.
<b>Método de la Esponja</b>	El método de la esponja se utiliza preferentemente para muestrear superficies de mayor área.
<b>Método del Enjuague</b>	Se utiliza para superficies vivas (manos) y para objetos pequeños o para el muestreo de superficies interiores de envases, botellas, bolsas de plástico, etc.

#### Método del enjuague

##### Descripción:

Dependiendo de la muestra, el método consiste en realizar un enjuague (botellas, frascos, utensilios, similares) o inmersión (manos, objetos pequeños) en una solución diluyente.

##### b) Materiales:

Frascos con tapa hermética de boca ancha de 250 mL de capacidad, con 100 mL de solución diluyente estéril. o Bolsas de polietileno de primer uso. o Pinzas estériles. o Guantes descartables de primer uso. o Protector de cabello. o Mascarillas descartables. o Plumón marcador indeleble (para vidrio). o Caja térmica. o Refrigerantes.

##### c) Procedimiento:

###### Para manos

Vaciar el diluyente del frasco (100 mL) en una bolsa plástica de primer uso.

Introducir las manos a muestrear hasta la altura de la muñeca.

Solicitar al manipulador que realice un frotado de los dedos y particularmente alrededor de las uñas y la palma de la mano, adicionalmente el muestreador deberá realizar la misma operación a través de las paredes de la bolsa, durante un (01) minuto aproximadamente.

Luego de retirar las manos se regresa el líquido al frasco o se anuda la bolsa y ésta se coloca en otra bolsa para que esté segura; en este caso, la bolsa que se utilice debe ser estéril.

#### **d) Conservación y Transporte de la muestra**

Las muestras se colocarán en un contenedor isotérmico con gel refrigerante, el cual se distribuirá uniformemente en la base y en los laterales, para asegurar que la temperatura del contenedor no sea mayor de 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. El tiempo de transporte entre la toma de muestra y la recepción en el laboratorio estará en función estricta de dicha temperatura, no debiendo exceder las 24 horas y excepcionalmente las 36 horas. Se deberá registrar la temperatura del contenedor al colocar las muestras y a la llegada al laboratorio con la finalidad de asegurar que las mismas hayan sido transportadas a la temperatura indicada. Las temperaturas superiores a 10°C invalidan la muestra para su análisis.

**Anexo 6: HOJA DE DATOS INFORMATIVOS PROYECTO k13101**

**Manipuladores**

	CÓDIGO	PAP		FECHA		RESPONSABLE								
	NÚMERO DE TRABAJADORES	F	M	SEXO		F	M	INSUMOS	JB	JL	TT	TP	DM	C
				NÚMERO DE MANIPULADORES										
<b>Codificación</b>	<b>APELLIDO</b>	<b>NOMBRE</b>		<b>CS</b>	<b>ACTIVIDAD</b>		<b>VESTIMENTA</b>					<b>OBSERVACIONES</b>		
							<b>RT</b>	<b>G/R</b>	<b>D</b>	<b>M</b>	<b>G</b>			

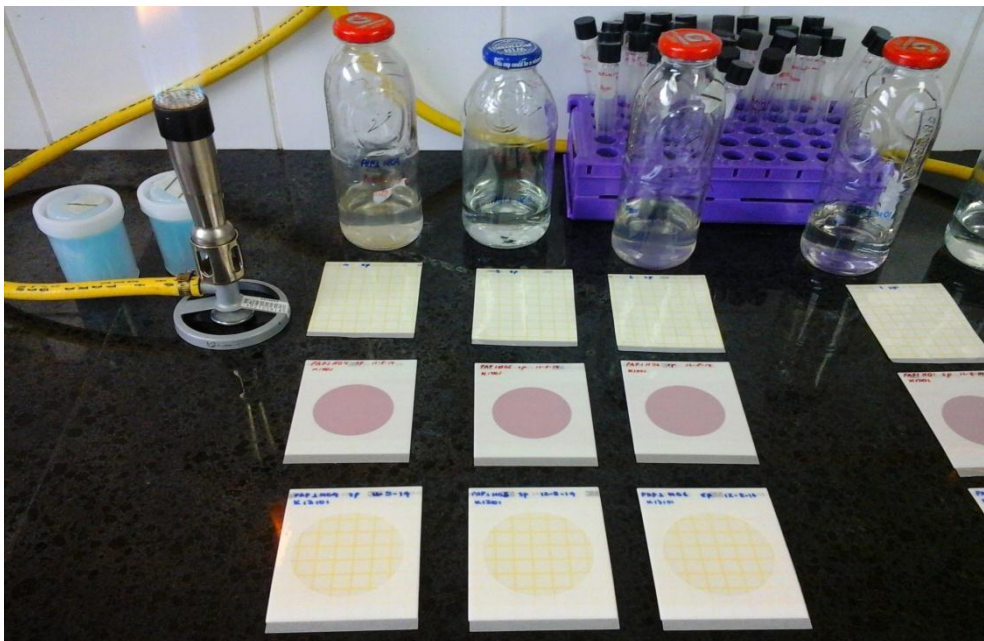
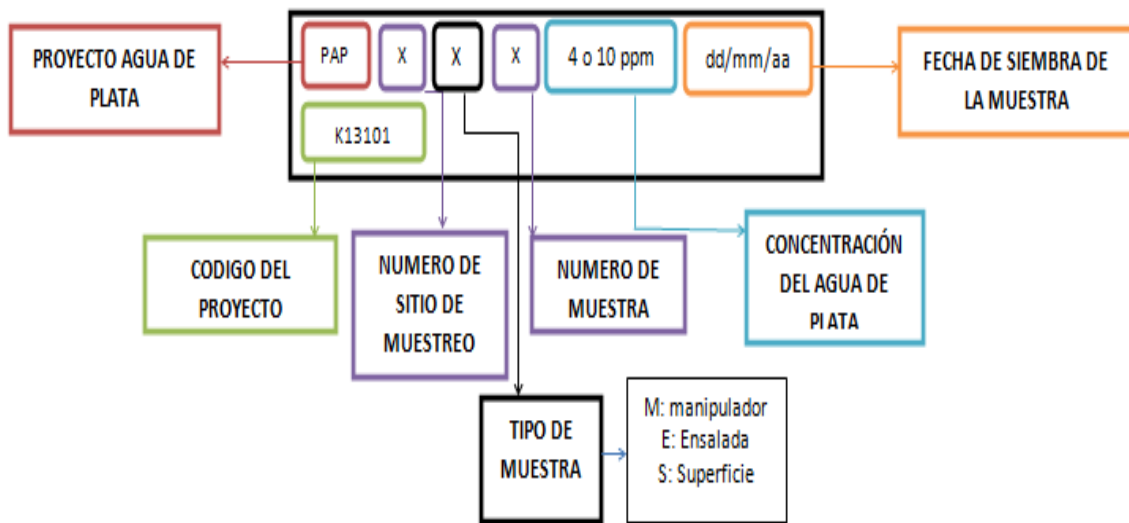
**Abreviaturas:** JB jabón de barra/JL jabón líquido/TT toalla de tela/TP toalla de papel/DM desinfectante de manos/C cepillo/CS carnet de salud/RT ropa de trabajo/G/R gorro/redecilla/D delantal/M mascarilla/G guantes

### **Anexo 7: Preparación de agua peptonada al 0,1 %**

1. Pesar 0,1 gramos del medio y aferrar a 100 ml de solvente
2. En una probeta medir los 100 ml necesarios de agua purificada Tipo II (solvente)
3. Mezclar los dos componentes y llevar al calor solamente hasta que se disuelva totalmente.
4. Trasvasar a frascos Scott de vidrio con 100 ml y 90 ml de agua peptonada, los que sean necesarios.
5. Mantener las tapas de los frascos a medio cerrar.
6. Llevar a esterilizar en autoclave a 121°C, 15 psi y 15'
7. Sacar el material con cuidado cuando las condiciones del equipo sean las permitidas
8. Rotular el material de trabajo con fecha de preparación
9. Llevar a refrigeración el material de trabajo hasta que se ocupe en el muestreo.

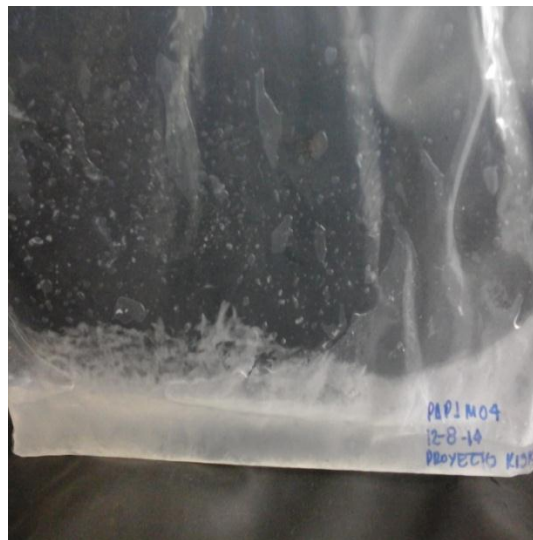
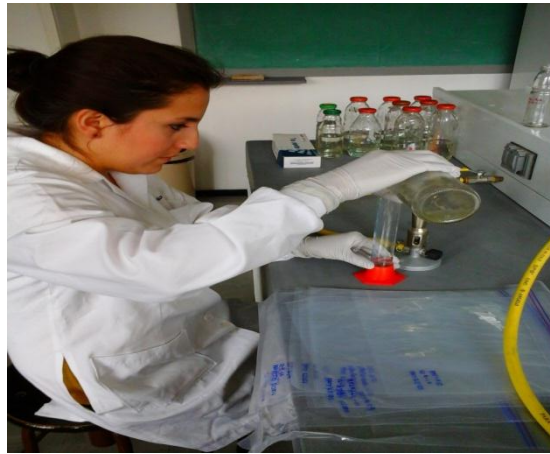
## Anexo 8: Codificación de las muestras

### Etiqueta



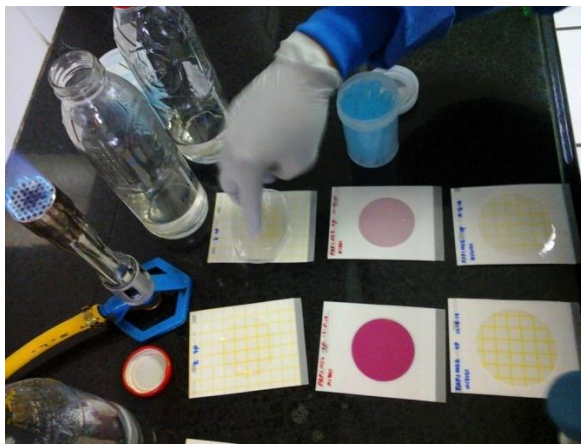
## Anexo 9: Toma de muestras

### Enjuague de manos



**Anexo 10: Procesamiento de las muestras**  
**Siembra de muestra sin tratamiento con agua de plata**





## Anexo 11: Procesamiento de las muestras

### Siembra de las muestras con tratamiento con agua de plata



## Anexo 12: Petrifilm Mesófilos aerobios.

### Guía de interpretación de resultados y uso.

**3M**

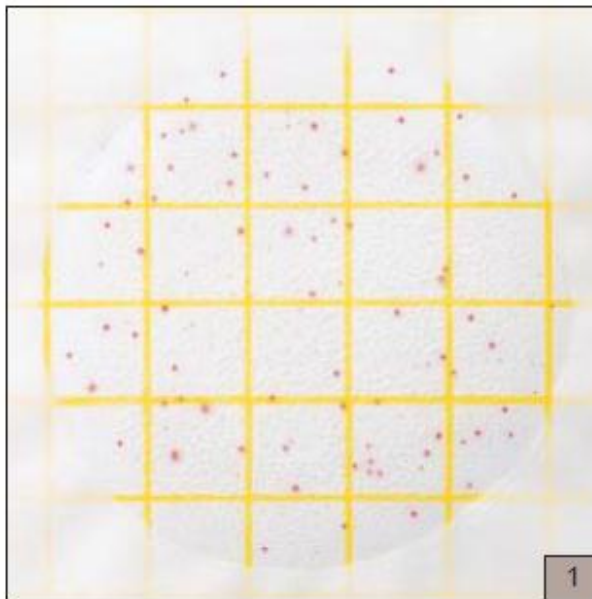
Interpretation Guide

# Petrifilm™

## Aerobic Count Plate

This guide familiarizes you with results on 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plates. For more information, contact the official 3M Microbiology Products representative nearest you.

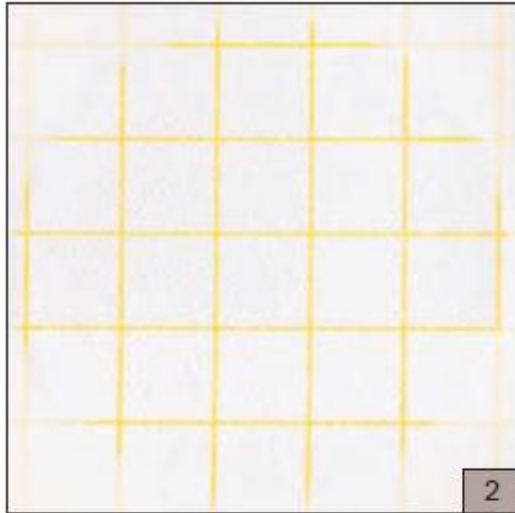
The Petrifilm Aerobic Count (AC) plate is a ready-made culture medium system that contains Standard Methods nutrients, a cold-water-soluble gelling agent, and an indicator that facilitates colony enumeration. Petrifilm AC plates are used for the enumeration of aerobic bacteria.



**Aerobic Bacteria Count = 152**

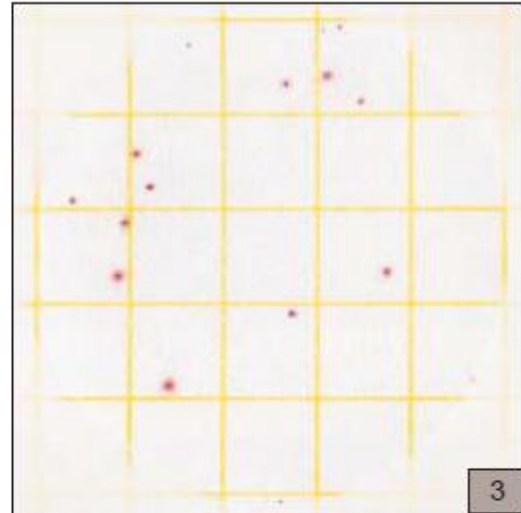
A red indicator dye in the plate colors the colonies. Count all red colonies regardless of their size or color intensity.

## 3M™ Petrifilm™ Aerobic Count Plate



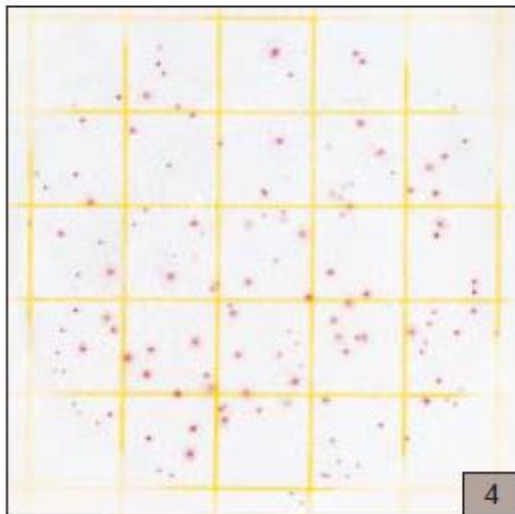
Count = 0

It is easy to interpret the Petrifilm AC plate. Figure 2 shows a Petrifilm AC plate without colonies.



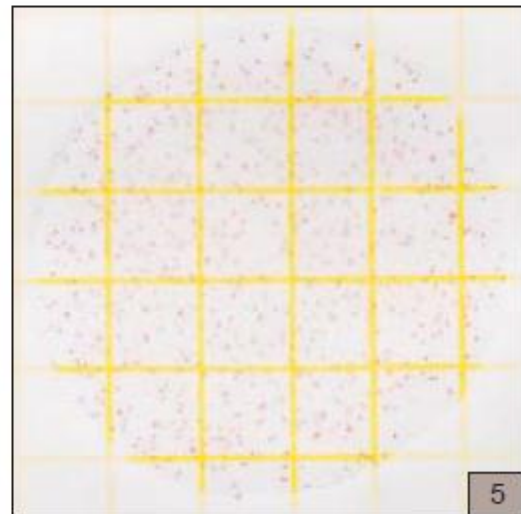
Count = 16

Figure 3 shows a Petrifilm AC plate with a few bacterial colonies.



Count = 143

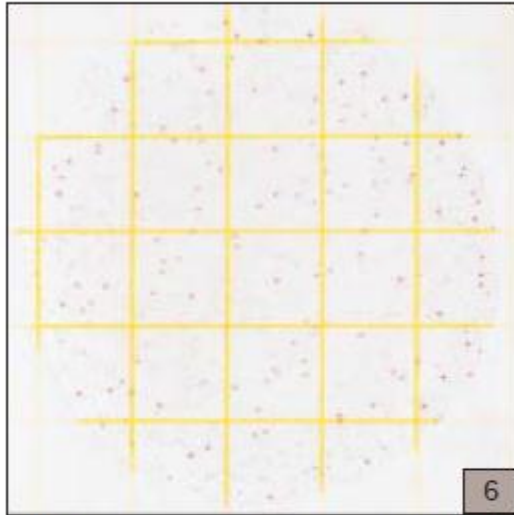
The preferable counting range on a Petrifilm AC plate is 25–250 colonies. See figure 4.



Estimated Count = 560

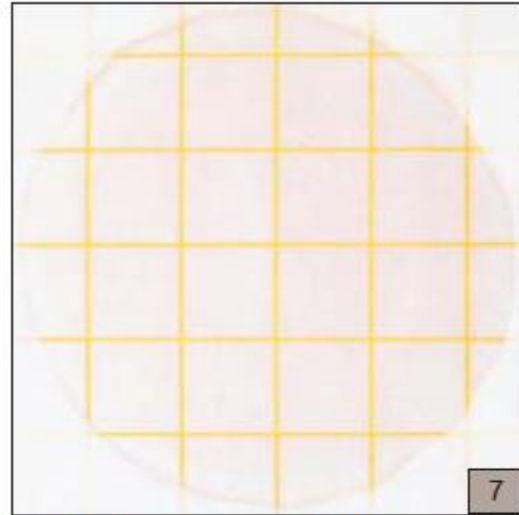
When colonies number more than 250, as in figure 5, estimate the count. Determine the average number of colonies in one square (1 cm<sup>2</sup>) and multiply it by 20 to obtain the total count per plate. The inoculated area on a Petrifilm AC plate is approximately 20 cm<sup>2</sup>.

## TNTC (Too Numerous to Count) To obtain a more accurate count, dilute the sample further



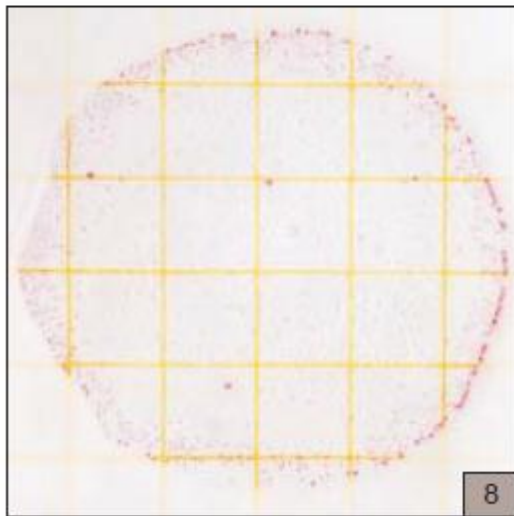
Count = TNTC (Estimated count =  $10^9$ )

Figure 6 shows a Petrifilm AC plate with colonies that are too numerous to count (TNTC).



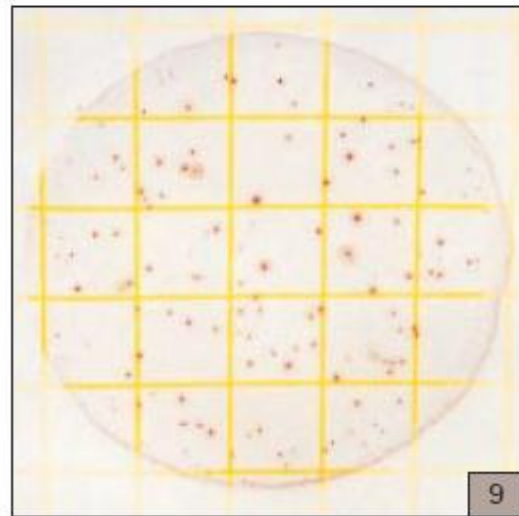
Count = TNTC (Estimated count =  $10^9$ )

With very high counts, the entire growth area may turn pink, as shown in figure 7. You might observe individual colonies only at the edge of the growth area. Record this as a TNTC result.



Count = TNTC (Estimated count =  $10^9$ )

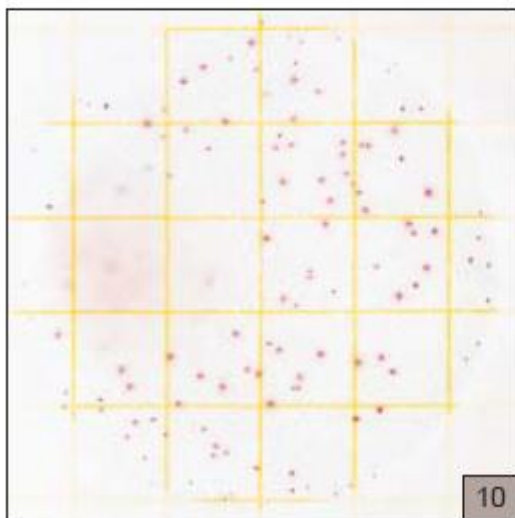
Occasionally, distribution of colonies appears uneven, as shown in figure 8. This is also an indication of a TNTC result.



Count = TNTC (Estimated count =  $10^9$ )

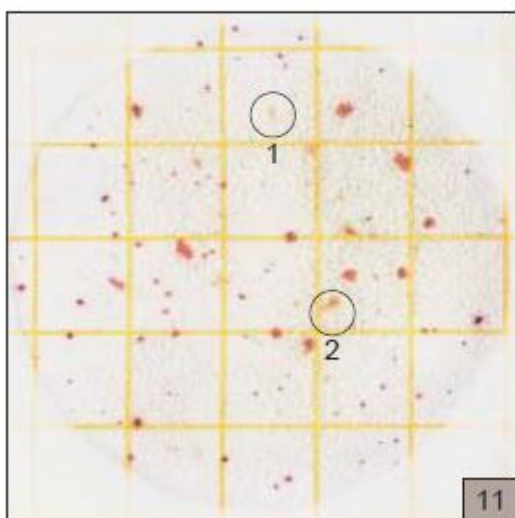
The colonies on the Petrifilm AC plate in figure 9 appear countable at first glance. However, when you look closely at the edge of the growth area, you can see a high concentration of colonies. Record this as a TNTC result.

# Gel Liquefaction and Food Particles



Estimated Count = 160

A few species of bacteria liquify the gel in the Petrifilm AC plate, as shown in figure 10. When this occurs, determine the average count in a few unaffected squares; and then multiply it by 20 to obtain the estimated count. Do not count red spots within the liquified area.



Count = 83

Because colonies on Petrifilm AC plates are red, you can distinguish them from opaque, irregularly shaped food particles (see circles 1 and 2).

# 3M Petrifilm™ Aerobic Count Plates

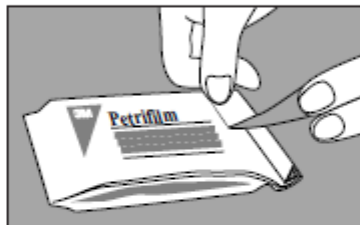
## Reminders for Use

For detailed CAUTIONS, DISCLAIMER OF WARRANTIES / LIMITED REMEDY, LIMITATION OF 3M LIABILITY, STORAGE AND DISPOSAL information, and INSTRUCTIONS FOR USE see Product's package insert.

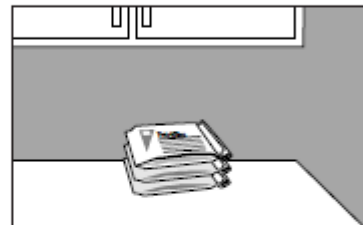
### Storage



- 1 Store unopened packages at  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46^{\circ}\text{F}$ ). Use before expiration date on package. In areas of high humidity where condensate may be an issue, it is best to allow packages to reach room temperature before opening.

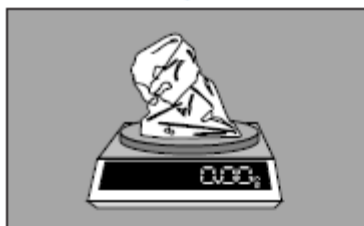


- 2 To seal opened package, fold end over and tape shut.

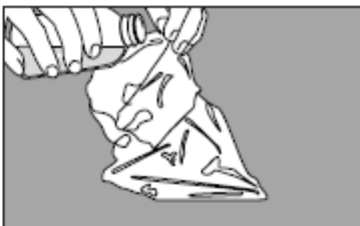


- 3 Keep resealed packages at  $\leq 25^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 77^{\circ}\text{F}$ ) and  $\leq 50\% \text{RH}$ . **Do not refrigerate opened packages.** Use Petrifilm plates within one month after opening.

### Sample Preparation



- 4 Prepare a 1:10 or greater dilution of food sample. Weigh or pipette food product into an appropriate container such as a stomacher bag, dilution bottle, Whirl-Pak® bag, or other sterile container.



- 5 Add appropriate quantity of one of the following sterile diluents: Butterfield's phosphate buffer (IDF phosphate buffer, 0.0425 g/L of  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  adjusted to pH 7.2), 0.1% peptone water, peptone salt diluent (ISO method 6887), buffered peptone water (ISO method 6579), saline solution (0.85 - 0.90%), bisulfate-free lathen broth, or distilled water.

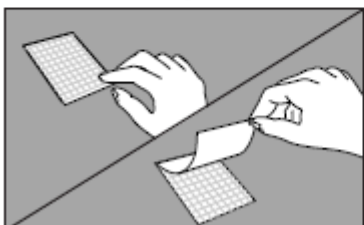
Do not use buffers containing citrate, bisulfite, or thiosulfate; they can inhibit growth.



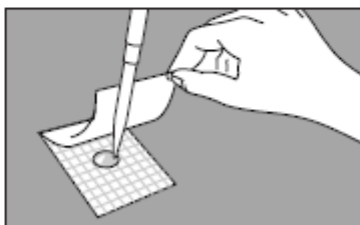
- 6 Blend or homogenize sample per current procedure.

Adjust pH of the diluted sample between 6.6 and 7.2 :  
• for acid products, use 1N NaOH,  
• for alkaline products, use 1N HCl.

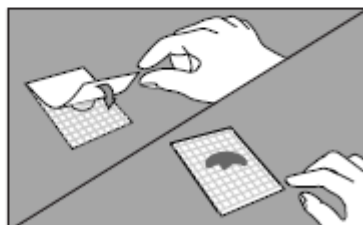
### Inoculation



- 7 Place Petrifilm plate on level surface. Lift top film.

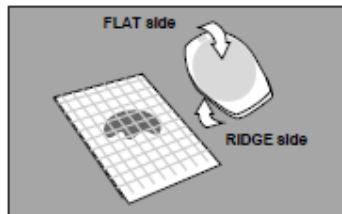


- 8 With pipette perpendicular to Petrifilm plate, place 1 mL of sample onto center of bottom film.

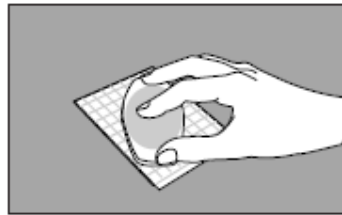


- 9 Release top film; allow it to drop. Do not roll top film down.

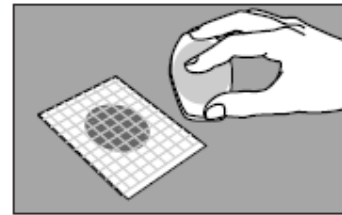
Continued - over



**10** With ridge side down, place spreader on top film over inoculum.

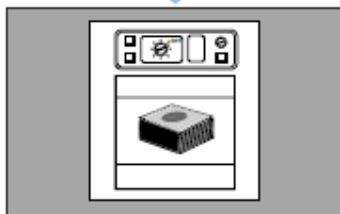


**11** Gently apply pressure on spreader to distribute inoculum over circular area. Do not twist or slide the spreader.



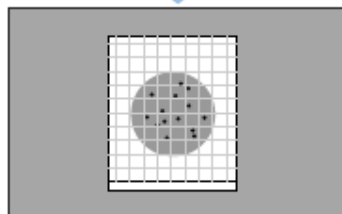
**12** Lift spreader. Wait at least one minute for gel to form.

## Incubation



**13** Incubate plates with clear side up in stacks of no more than 20. It may be necessary to humidify incubator to minimize moisture loss.

## Interpretation



**14** Petrifilm plates can be counted on a standard colony counter or other magnified light source. Refer to the *Interpretation Guide* section when reading results.



**15** Colonies may be isolated for further identification. Lift top film and pick the colony from the gel.

Incubation time and temperature varies by method. Most common approved methods:

- **AOAC® Official Method 986.33**  
(milk and dairy products)  
Incubate 48h ± 3h at 32°C ± 1°C
- **AOAC® Official Method 990.12**  
Incubate 48h ± 3h at 35°C ± 1°C
- **AFNOR Validated Method**  
3M 01/1-09/89  
Incubate 72h ± 3h at 30°C ± 1°C
- **NMKL Method 146.1993**  
Incubate 72h ± 3h at 30°C

## Additional Comments

- Questions? U.S., call 1-800-328-6553, Canada, call 1-800-563-2921 for technical service.
- To order Petrifilm plates in the U.S., call 1-800-328-1671.
- Latin America / Africa and Asia Pacific regions, call 1-651-733-7562.

**3M**

**Microbiology Products**  
3M Center  
Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1 800 228-3957  
www.3M.com/microbiology  
Email: microbiology@3M.com

**3M Canada, Inc.**  
Post Office Box 5757  
London, Ontario N6A 4T1  
Canada  
1 800 364-3577

**3M Europe**  
Laboratoires 3M Santé  
Boulevard de l'Oise  
F-95029 Cergy-Pontoise Cedex  
France  
33 1 30 31 8571

Petrifilm is a trademark of 3M.  
Whirl-Pak is a registered trademark of Nasco.

♻️ 40% Pre-consumer waste paper  
10% Post-consumer waste paper

Printed in U.S.A.  
©2001 70-2008-4572-8(1111)J

## Anexo 13: Petrifilm E.coli/Coliformes.

### Guía de interpretación de resultados y uso.

**3M**

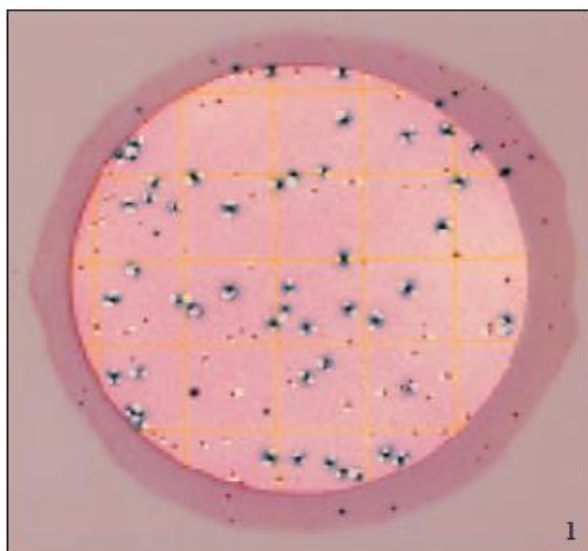
Guía de Interpretación

# Placas Petrifilm<sup>MR</sup> E. coli/Coliformes

Esta guía lo familiarizará con los resultados de las Placas Petrifilm 3M para Recuento de E. coli /coliformes. Para más información, contactar a su representante oficial más cercano de los Productos de Microbiología.

Las placas Petrifilm para Recuento de E. coli / Coliformes 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. 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 producido por los coliformes fermentando la lactosa y la E. coli. Cerca del 95% de las E. coli producen gas, indicado por las colonias de color rojo a azulado asociadas con el gas atrapado sobre la placa Petrifilm EC (con el diámetro aproximado de de una colonia).

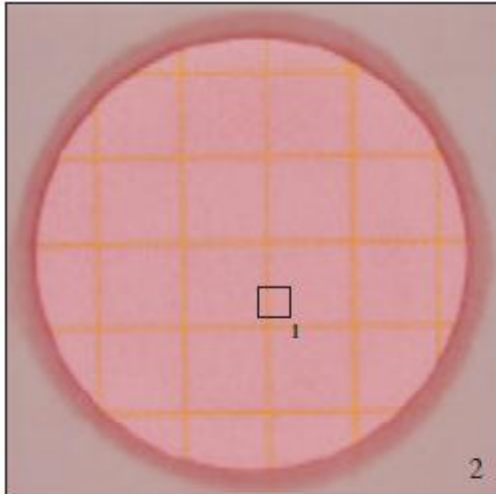
La AOAC INTERNATIONAL y el Bacteriological Analytical Manual (BAM) de la FDA definen a los coliformes como bacilos gram negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica. Las colonias de coliformes creciendo en la placa Petrifilm EC producen ácido el cual ocasiona que el indicador de pH tiña el gel de color rojo obscuro. El gas atrapado alrededor de las colonias de coliformes indica coliformes confirmados.



La identificación de la E. coli puede variar por país (ver la Sección Instrucciones de Uso para tiempos y temperaturas de incubación):

Método Validado AOAC INTERNATIONAL  
E. coli = 49 (colonias azules con gas)  
Coliformes totales = 87 (rojas y azules con gas)

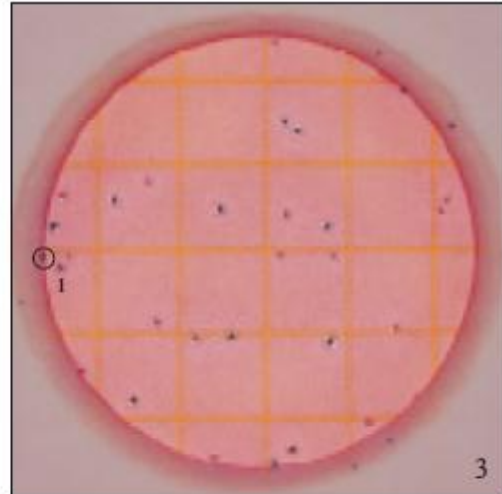
No usar esta placa solamente para la detección de la E. coli O157. Como otros medios para E. coli /coliformes, esta placa no indicará específicamente si esta presente alguna cepa de O157.



No crecimiento = 0

Note los cambios en el color del gel en las figuras 2 a 8. Conforme la cuenta de E. coli y coliformes se incrementa, el color del gel se toma desde rojo oscuro hasta azul púrpura.

Las burbujas del fondo son características del gel y no son el resultado del crecimiento de coliformes o E. coli. Ver cuadro 1.

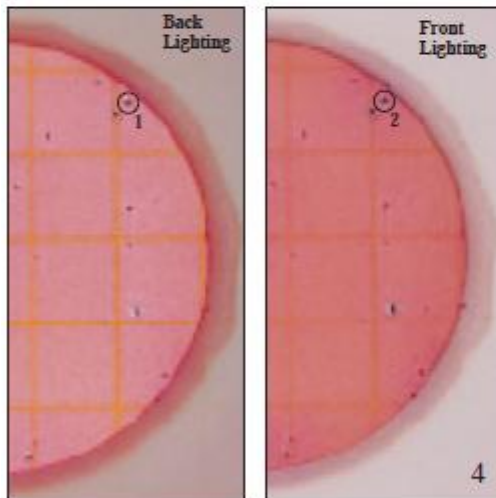


Recuento de E. coli = 13

Recuento de coliformes totales = 28

El rango de conteo para la población total en las placas Petrifilm EC es de 15-150

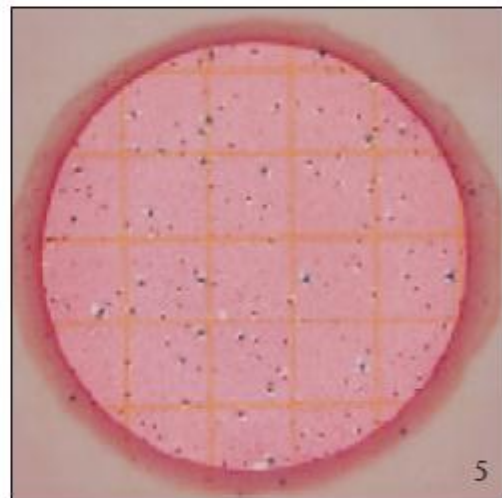
No cuente las colonias que aparecen en la barrera de hule espuma porque están fuera de la influencia selectiva del medio. Ver círculo 1.



Recuento de E.coli = 3

Cualquier coloración azul (azulosa a rojo-azul) indica la presencia de E. coli. La luz frontal aumenta la detección del precipitado azul formado por cualquier colonia.

El círculo 1 muestra una colonia rojo-azul usando luz posterior. El círculo 2 muestra la misma colonia con luz frontal. El precipitado azul es mas evidente en el círculo 2.



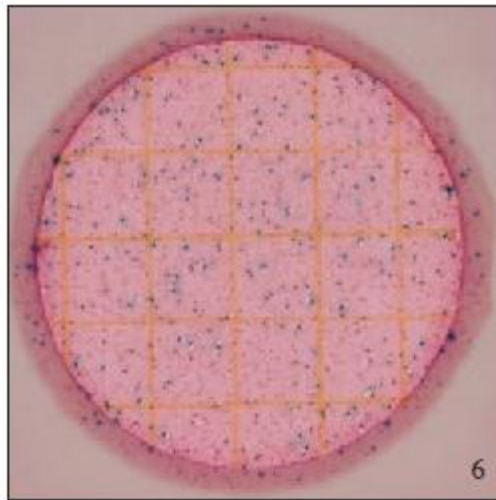
Recuento de E. coli = 17

Recuento de coliformes totales = 150

El área de crecimiento circular es de aproximadamente 20 cm<sup>2</sup>.

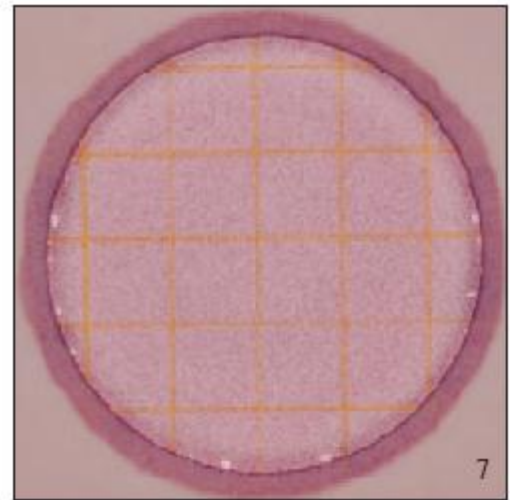
La estimación se puede hacer sobre placas conteniendo mas de 150 colonias contando el número de colonias en uno ó mas cuadrados representativos y determinando el número promedio por cuadro. Multiplicar el numero promedio por 20 para determinar el recuento estimado por placa.

## TNTC Demasiado Numerosas para Contar *Para obtener una cuenta mas precisa, diluya más la muestra.*



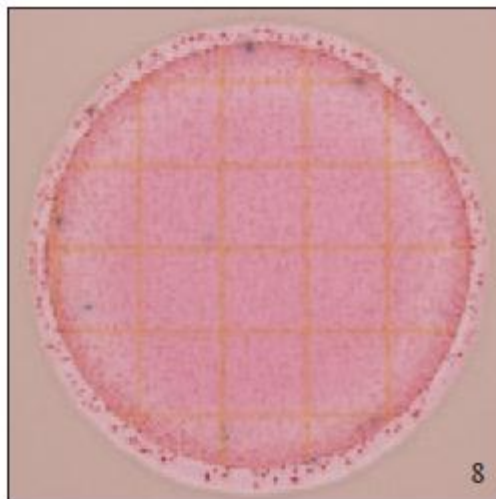
**Recuento real ~ 106**

Las placas Petrifilm EC con colonias que son TNTC tienen una ó mas de las siguientes características:  
Muchas colonias pequeñas, muchas burbujas de gas, y un oscurecimiento del color del gel desde rojo a azul púrpura..



**Recuento real ~ 106**

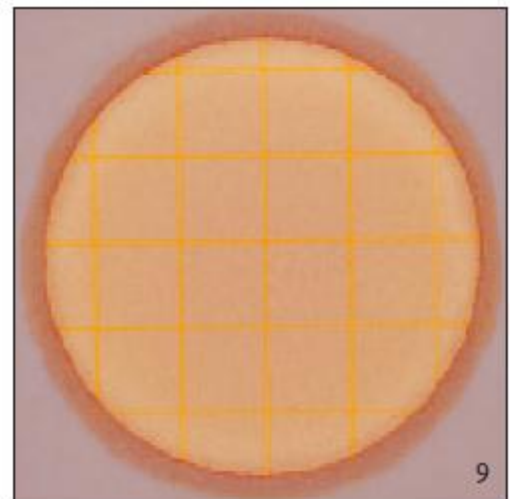
Altas concentraciones de E. coli pueden causar que el area de crecimiento se torne azul púrpura.



**Recuento presuntivo de E. coli ~ 8**

**Recuento de coliformes totales ~ 108**

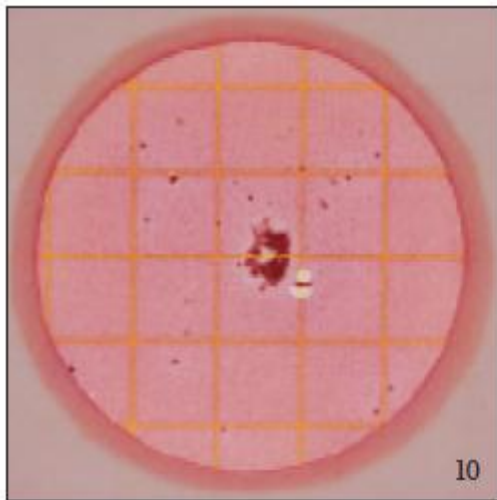
Cuando están presentes altos niveles de coliformes (>108), algunas cepas de E. coli pueden producir menos gas y las colonias azules pueden estar menos definidas. Cuente todas las colonias azules sin gas y/o Colonias azules como E. coli presuntivas. Repique las colonias azules sin gas y confirme si es necesario.



**Recuento real ~ 108**

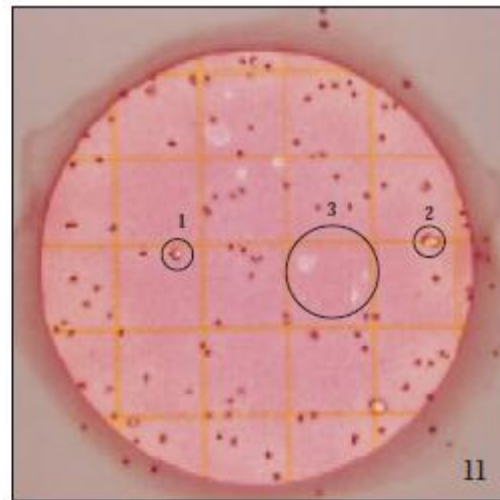
Cuando están presentes altos números de organismos no coliformes como las Pseudomonas en la placa Petrifilm EC, el gel puede cambiar a amarillo.

# Burbujas



Recuento de coliformes totales = 3

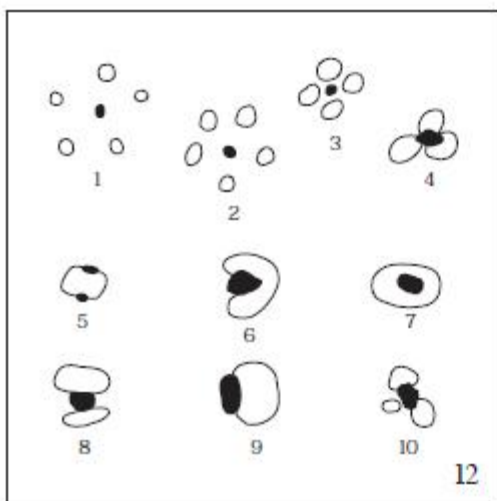
Las partículas de alimento son de forma irregular y no están asociadas a burbujas de gas.



Recuento total de coliformes = 78

Los patrones de burbujas pueden variar. El gas puede desorganizar a la colonia de tal forma que la colonia queda rodeada por la burbuja. Ver círculos 1 y 2.

Las burbujas de artefacto pueden resultar de inoculación inapropiada o del atrapamiento de aire dentro de la muestra. Son de forma irregular y no están asociadas a colonias. Ver círculo 3.



Los ejemplos mostrados del 1-10 muestran diversos patrones de burbujas asociadas con las colonias productoras de gas. Todas deben ser enumeradas.

# 3M Placas Petrifilm<sup>MR</sup> Placa para el recuento de E. coli/coliformes

## Instrucciones de Uso

Para información detallada sobre ADVERTENCIAS, PRECAUCIONES, GARANTIAS/ REMEDIOS LIMITADOS, LIMITACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE 3M, ALMACENAMIENTO Y DESECHO, e INSTRUCCIONES DE USO, ver el instructivo del producto dentro del paquete.

### Almacenamiento



1 Almacene los paquetes sin abrir a <math><8^{\circ}\text{C}</math> (<math><46^{\circ}\text{F}</math>). Usar antes de la fecha de expiración en el paquete. En áreas de alta humedad donde la condensación puede ser un problema, es mejor dejar que los paquetes alcancen la temperatura de habitación antes de abrir.



2 Para sellar los paquetes abiertos, doble el extremo del mismo y coloque una cinta.



3 Mantener cerrados los paquetes a <math><25^{\circ}\text{C}</math> (<math><77^{\circ}\text{F}</math>) y <math><50\%</math> de Humedad Relativa. No refrigerar los paquetes abiertos. Usar las placas Petrifilm dentro de un mes después de abiertos.

### Preparación de la Muestra



4 Preparar una dilución 1:10 o mayor del alimento. Pesar o pipetear el producto alimenticio en un contenedor apropiado como una bolsa de digestor, botella de dilución, bolsa Whirl-Pak, u otro contenedor estéril.



5 Adicionar la cantidad apropiada de uno de los siguientes diluyentes estériles: Buffer de fosfatos de Butterfield's (buffer fosfatos IDF, 0.0425 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ajustado a pH 7.2), agua peptonada al 0.1%, diluyente de peptona sal (método ISO 6887), agua peptonada bufferada (método ISO 6579), solución salina (0.85-0.90%), caldo letheen libre de bisulfitos, ó agua destilada.

No usar buffers que contengan citratos, bisulfitos ó tiosulfatos, pueden inhibir crecimiento.



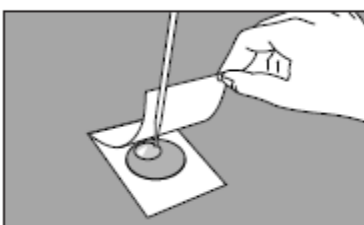
6 Mezclar u homogenizar las muestras por el procedimiento normal.

Para productos ácidos ajustar el pH de la muestra diluida a 6.5-7.5 con NaOH 1N. Para productos alcalinos ajustar el pH con HCl 1N.

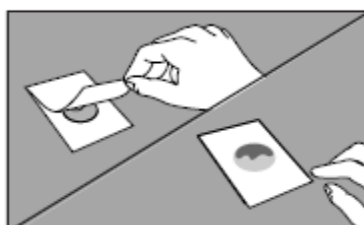
### Inoculación



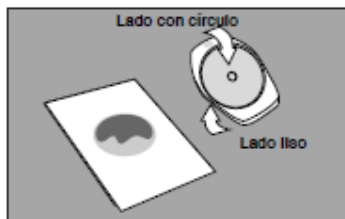
7 Colocar la placa Petrifilm sobre una superficie a nivel. Levantar el film superior



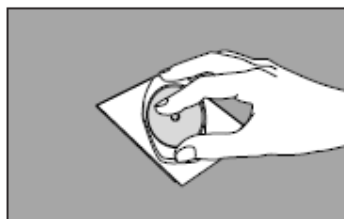
8 Con la pipeta perpendicular a la placa Petrifilm, colocar 1ml de la muestra en el centro del film inferior.



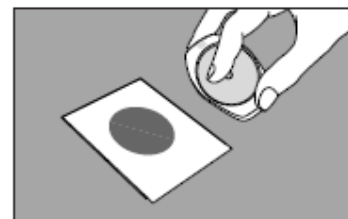
9 Desenrollar cuidadosamente el film hacia abajo para evitar atrapamiento de burbujas de aire.



10 Colocar el difusor con el lado plano hacia la placa hacia el film superior sobre el inóculo.



11 Aplicar una ligera presión sobre el difusor para distribuir el inóculo sobre el área circular antes de que se forme el gel. No mover o deslizar el difusor.



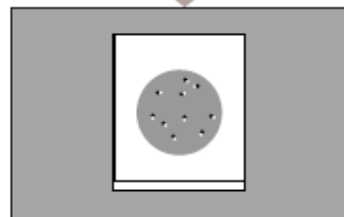
12 Retirar el difusor. Esperar un mínimo de un minuto hasta que solidifique el gel.

### Incubación

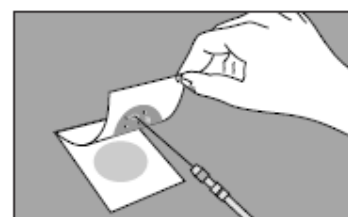


13 Incubar las placas con el lado claro hacia arriba en columnas no mayores a 20. Puede ser necesario humidificar la incubadora para minimizar la pérdida de humedad.

### Interpretación



14 Las placas Petrifilm pueden contarse sobre un contador estándar u otro tipo de lupa con luz. Referirse a la Guía de Interpretación cuando se lean los resultados



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

Los tiempos y temperaturas de incubación varían de acuerdo al método.  
Los métodos más comúnmente aprobados son:

**AOAC Método Oficial 991.04**  
Para coliformes: incubar 24h +/- 2h @ 35°C +/- 1°C  
Para E. coli: incubar 48h +/- 2h @ 35 °C +/- 1°C

**AOAC Método Oficial 998.08**  
Para E. coli (para cármicos, pollo y comida del mar):  
Incubar a 24h +/- 2h @ 35°C +/- 1°C

**AFNOR Método Validado 3M 01/4 -09/92**  
Para E. coli: incubar 24h +/- 2h @ 42°C +/- 1°C

**NMKL Método (147.1993)**  
Para coliformes : incubar 24h +/- 2h @ 37°C  
Para E. coli: incubar 48h +/- 2h @ 37°C



Productos Microbiológicos  
3M Center Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1-800-228-3957  
microbiology@mmm.com

3M México, S.A. de C.V.  
Av. Santa Fe No.55  
Col. Santa Fe  
Del. Alvaro Obregón  
CP 01210 México D.F.  
(525) 52-70-20-60

Petrifilm es una marca de 3M.  
Whit-Pak es una marca registrada de NASCO.

© 3M 1998  
70-2008-4574-4 (78.5) DPI

## Anexo 14: PETRIFILM Staph Express Count Plate.

### Guía de Interpretación de resultados y uso.

**3M**

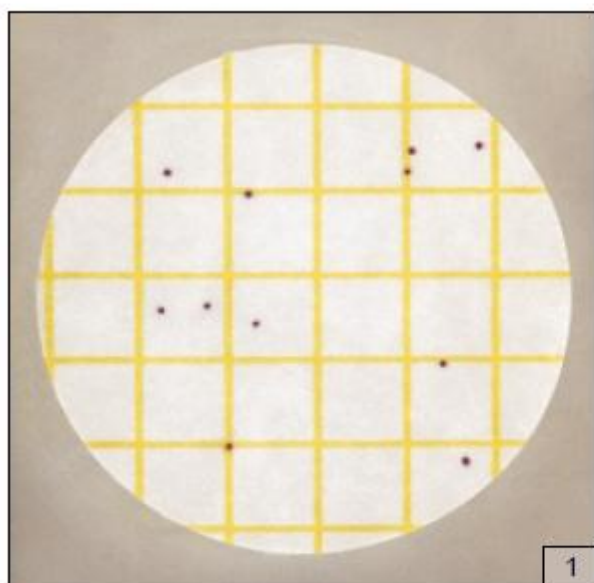
Interpretation Guide

# Petrifilm™ Staph Express Count Plate

This guide familiarizes you with results on 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plates. For more information, contact the 3M Microbiology representative nearest you.

The Petrifilm™ Staph Express Count Plate is a sample-ready culture medium system which contains a cold-water-soluble gelling agent. The chromogenic, modified Baird-Parker medium in the plate is selective and differential for *Staphylococcus aureus*. Red-violet colonies on the plate are *S. aureus*.

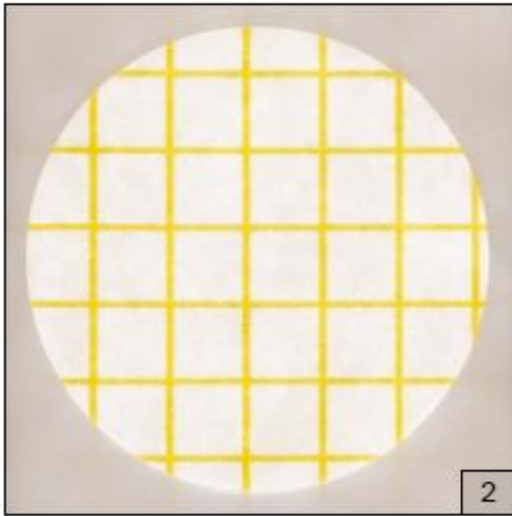
If you encounter background flora in your staph testing, the 3M Petrifilm Staph Express Disk may be used to identify *S. aureus* from all suspect colonies. The Petrifilm Staph Express Disk should be used whenever colonies other than red-violet are present on the plate; for example, black colonies or blue-green colonies. The Petrifilm Staph Express Disk contains a dye and deoxyribonucleic acid (DNA). *S. aureus* produces deoxyribonuclease (DNase) and the DNase reacts with the dye to form pink zones. When the disk is inserted into the plate, *S. aureus* (and occasionally, *Staphylococcus hyicus* and *Staphylococcus intermedius*) produce a pink zone. *S. aureus*, *S. hyicus*, and *S. intermedius* comprise the majority of the group of organisms commonly known as coagulase-positive staphylococci. Most other types of bacteria do not produce pink zones.



***S. aureus* Count = 11**

This picture shows only red-violet colonies. Count all red-violet colonies as *S. aureus*. The test is complete.

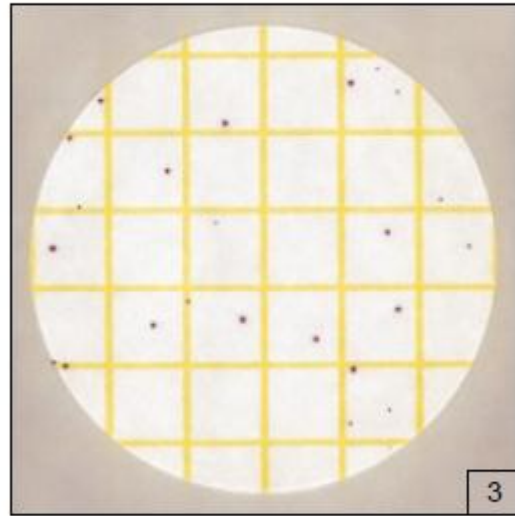
# 3M™ Petrifilm™ Staph Express Count Plate



2

*S. aureus* Count = 0

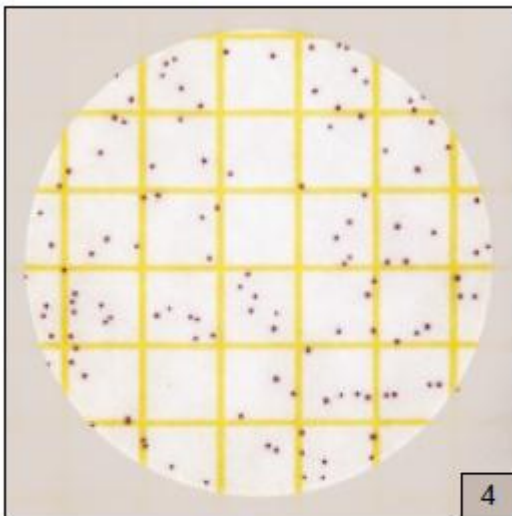
This Petrifilm Plate has no colonies after 24 hours of incubation. The test is complete.



3

*S. aureus* Count = 24

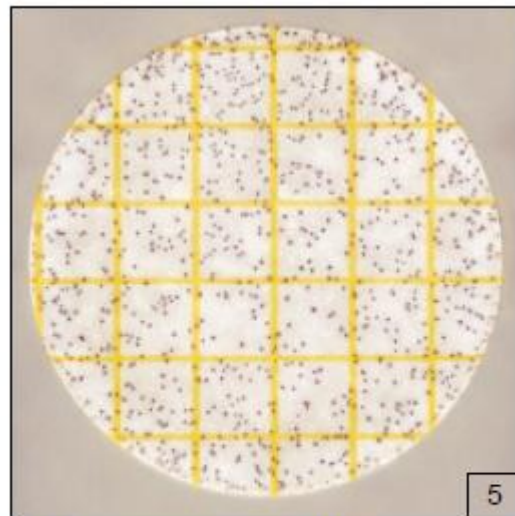
*S. aureus* colonies may vary in size. Count all red-violet colonies regardless of size. Use an illuminated magnifier so that the colonies are easier to see. The test is complete.



4

*S. aureus* Count = 122

The recommended counting limit on a Petrifilm Staph Express Count Plate is 150 *S. aureus* colonies. The plate in Figure 4 is approaching the counting limit. The test is complete.



5

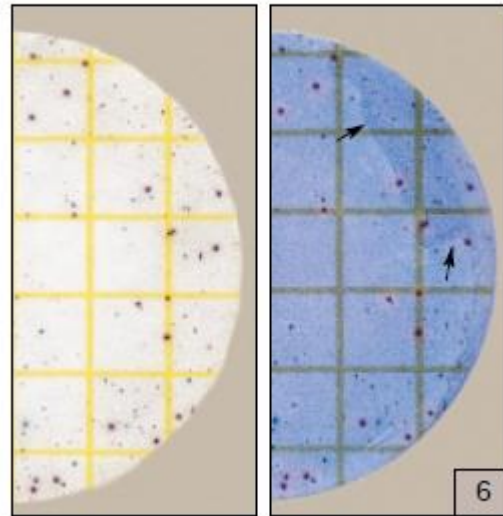
Estimated *S. aureus* Count ~ 850E

When the number of *S. aureus* colonies exceeds 150, the colonies become too numerous to count (TNTC). Estimate the count or dilute your sample further. To estimate the count, count the colonies in one representative square and multiply that number by 30.

# 3M™ Petrifilm™ Staph Express Disk

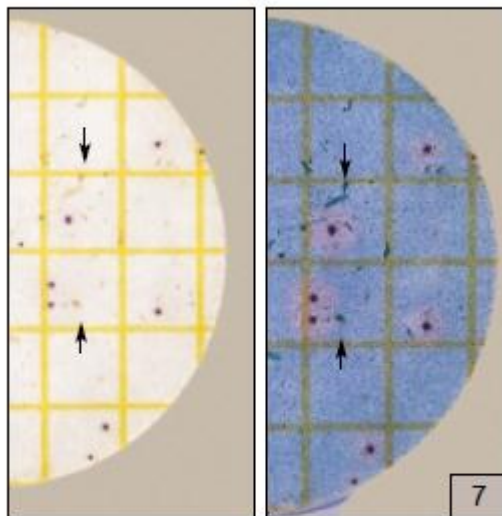
The Petrifilm Staph Express Disk should be used whenever colonies other than red-violet are present on the plate – for example, black or blue-green colonies – as they may obscure *S. aureus*. Black colonies may or may not be *S. aureus*. Blue-green colonies are not *S. aureus*.

When the disk is inserted into the plate and they are incubated, pink DNase zones form. Pink zones are *S. aureus* the majority of the time but occasionally may be *S. hyicus* or *S. intermedius*. The group of organisms commonly known as coagulase-positive staphylococci is mainly comprised of *S. aureus*, *S. hyicus* and *S. intermedius*.



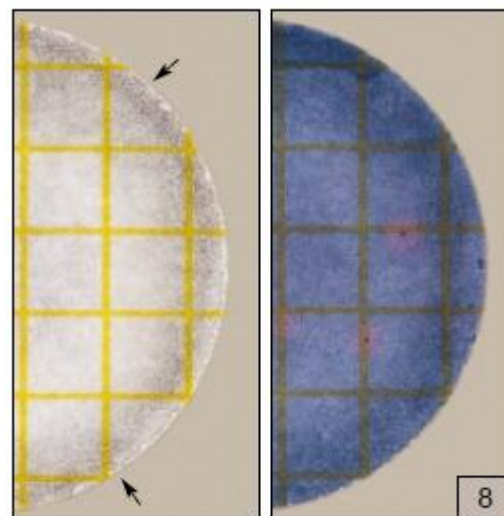
*S. aureus* Count = 17

Count pink zones as *S. aureus*, regardless of the size of the zone. The arrows in the figure show gel splitting. Gel splitting does not affect the performance.



*S. aureus* Count = 7

Food particles in this figure are irregularly shaped. *S. aureus* is easier to enumerate once the disk has been inserted because the zones are more clearly distinguished from the food.



*S. aureus* Count = 3

Individual colonies are difficult to see due to food and/or large numbers of background bacteria as depicted by discoloration of the plate in this figure. Insert the disk and count pink zones as *S. aureus*.

## 3M Petrifilm™ Staph Express Count Plates and Disks Reminders for Use

For detailed WARNINGS, CAUTIONS, DISCLAIMER OF WARRANTIES / LIMITED REMEDY, LIMITATION OF 3M LIABILITY, STORAGE AND DISPOSAL information, and INSTRUCTIONS FOR USE see Product's package insert.

### Storage



- 1 Store unopened pouches of plates and disks at  $\leq 8^{\circ}\text{C}$  ( $\leq 46^{\circ}\text{F}$ ). Use before expiration date on package. In areas of high humidity where condensate may be an issue, it is best to allow pouches to reach room temperature before opening.



- 2 To seal opened pouch, fold end over and tape shut.



- 3 **Plates and Disks:** To prevent exposure to moisture, do not refrigerate opened pouches. Store resealed pouches in a cool, dry place. Use plates within one month after opening. Use disks within 6 months after opening. Avoid exposure of plates and disks to temperature  $> 25^{\circ}\text{C}$  ( $> 77^{\circ}\text{F}$ ) and/or relative humidity  $> 50\%$ .

### Sample Preparation



- 4 Prepare dilution of food product. Weigh or pipette food product into a sterile container such as a homogenizer bag or dilution bottle.



- 5 Add appropriate quantity of one of the following **sterile** diluents: Butterfields phosphate buffer (IDF phosphate buffer,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  @ 0.0425 g/L, adjust to pH 7.2), 0.1% peptone water, peptone salt diluent (ISO method 6887-1), buffered peptone water (ISO 6887-1), saline solution (0.85 – 0.90%), bisulfite-free letheen broth or distilled water.

Do not use buffers containing citrate, bisulfite, or thiosulfate; they can inhibit growth.

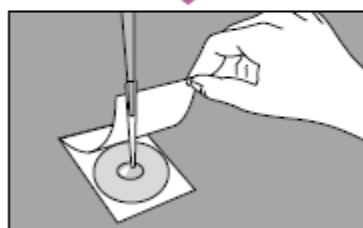


- 6 Blend or homogenize sample per current procedure.

For optimal growth and recovery of microorganisms, adjust the pH of the sample suspension to 6-8.

- For acidic products, adjust the pH with 1N NaOH
- For alkaline products, adjust the pH with 1N HCl.

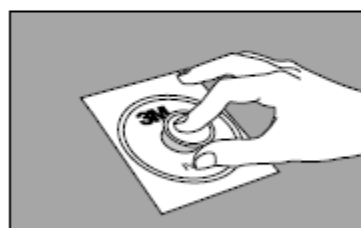
### Inoculation



- 7 Place Petrifilm Plate on level surface. Lift top film. With 3M™ Electronic Pipettor or equivalent held **perpendicular** to Petrifilm Plate, place 1 mL of sample or diluted sample onto center of bottom film.

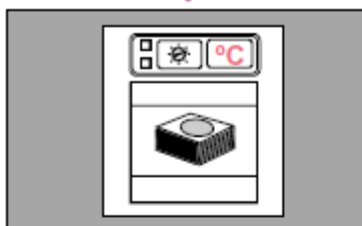


- 8 **ROLL** top film down onto sample **gently** to prevent pushing sample off film and to avoid entrapping air bubbles. Do not let top film drop.



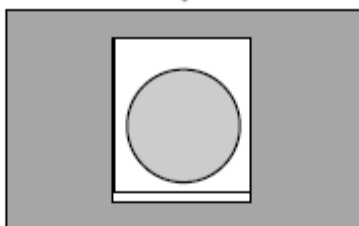
- 9 **Gently** apply pressure on spreader to distribute inoculum over circular area. Do not twist or slide the spreader. Lift spreader. Wait a minimum of 1 minute for gel to solidify.

## Incubation

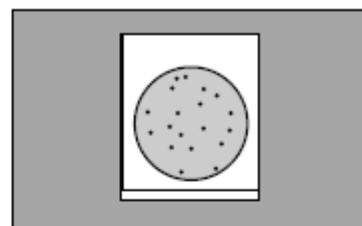


- 10 Incubate plates with clear side up in stacks of up to 20 at time and temperature listed below. It may be necessary to humidify incubator to minimize moisture loss.

## Interpretation



- 11 If no colonies are present after  $24 \pm 2$  hours of incubation, the count is zero and the test is complete.



- 12 Count red-violet colonies as *S. aureus*. Petrifilm Plates can be counted on a standard colony counter or other illuminated magnifier.

### INCUBATION TIME AND TEMPERATURE VARY BY METHOD.

#### Most common methods used in the United States:

- AOAC Official Method 2003.07 for the Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Types of Processed and Prepared Foods
- AOAC Official Method 2003.08 for the Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Dairy Foods
- AOAC Official Method 2003.11 for the Enumeration of *Staphylococcus aureus* in Selected Meat, Seafood and Poultry

Incubate  $24\text{h} \pm 2\text{h}$  at  $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  or  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$

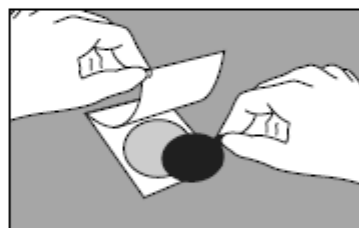
- If no colonies or only red-violet colonies appear, test is complete, no need to use disk. Count red-violet colonies as *S. aureus*.
- If colony colors besides red-violet appear, insert disk and re-incubate 1 to 3 hours at  $35^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  or  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ . Count pink zones as *S. aureus*.

#### Most common methods used in Europe:

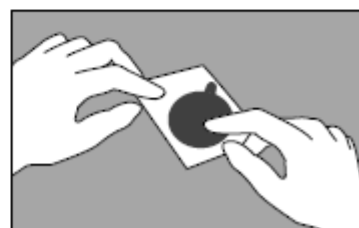
- Nordic System for validation of alternative microbiological methods, Nordval Validation (Ref. No.: 2003-20-5408-00019) for all foods. Refer to NordVal validation for Petrifilm Staph Express Plate method details.
- AFNOR validated method (3M-01/19-04/03) Use the following details when implementing the Instructions for Use.
  - **Sample Preparation:** Use only ISO listed diluents. See ISO 6887-1:1999 (peptone salt diluent and buffered peptone water)
  - **Incubation:**  
Incubation of tests:  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  for  $24\text{h} \pm 2\text{h}$   
Incubation of disks:  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  for 3 hours
  - **Interpretation:**  
Counting range is:  
 $\leq 150$  red-violet colonies and/or  $\leq 300$  total colonies  
 $\leq 150$  pink zones  
Read the plates within 3 hours after incubation is complete.

## Disk Use

If colony colors besides red-violet are present, they may obscure *S. aureus*. Use a Petrifilm Staph Express Disk (see 13-16).

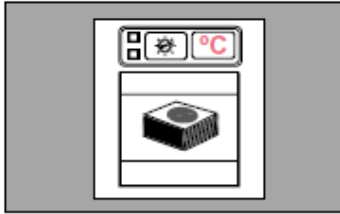


- 13 Remove a disk from its individual package by grasping the tab. Lift the top film of the Petrifilm Plate and place the disk in the well of the plate. Lower the top film.

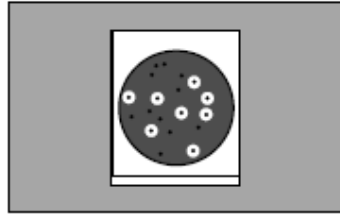


- 14 Apply gentle pressure to the disk area, including the edges of the disk, by sliding a finger firmly across the top film. This will ensure uniform contact of the disk with the gel and will eliminate any air bubbles.

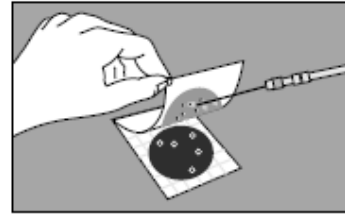
## Further Identification



**15** Incubate plates with inserted disks in stacks of no more than 20 plates see time and temperature listed on previous page.



**16** Count all pink zones whether or not a colony is present.



**17** If further identification is desired, lift top film and pick the colony from the gel.

## Additional Comments

- Questions? U.S., call **1-800-328-6553**.
- To order Petrifilm Plates in the U.S., call **1-800-328-1671**.
- 3M Microbiology offers a full line of products to accomplish a variety of your microbial testing needs. For more information, visit us at [www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)

### 3M

**3M Microbiology**  
3M Center, Bldg. 275-5W-05  
St. Paul, MN 55144-1000  
USA  
1-800-228-3957  
[microbiology@mmm.com](mailto:microbiology@mmm.com)  
[www.3M.com/microbiology](http://www.3M.com/microbiology)

**3M Canada**  
Post Office Box 5757  
London, Ontario N6A4T1  
Canada  
1-800-563-2921

**3M Europe**  
Laboratoires 3M Santé  
Boulevard de l'Oise  
95029 Cergy Pontoise Cedex  
France  
33 1 30 30 85 71

**3M Latin America**  
Avenida Santa Fe 55, Santa Fe  
C.P. 01210 Mexico City  
Mexico  
5255-5270-0400

**3M AsiaPacific**  
9 Tagore Lane  
Singapore 787472  
65-64548611

**3M Japan**  
31-1, Tamagardai, 2-Chome  
Setagaya-Ku, Tokyo  
158-8583, Japan  
81-3-3709-8289

**3M Australia/New Zealand**  
9 - 15 Chilvers Road  
Thornleigh, NSW 2120  
Australia  
1300 363 878



*Recycled Paper*  
40% pre-consumer  
10% post-consumer

Petrifilm is a trademark of 3M.  
Printed in U.S.A.  
© 3M 2004

70-2009-4286-3

**Anexo 15: Documento de certificación de las concentraciones de agua de plata de 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm (Cortesía de Ing. Osvaldo Carbonari - ARGENTUM)**

Argentum 

**AGUA COLOIDAL  
DE PLATA**

Quito, 5 de mayo de 2014

Máster  
Elena Granda  
Escuela de Bioanálisis-Carrera de Microbiología  
Pontificia Universidad Católica del Ecuador  
Presente

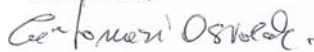
Saludos cordiales:

Yo, Osvaldo Carbonari, Gerente de la Empresa Argentum, procedo a entregar 4000 ml de Agua de Plata Coloidal para cada concentración (4PPM, 10PPM, 15PPM) a probar en el proyecto de investigación planteado para el año 2014.

Deseoso de colaborar siempre con la investigación y mejoras en procesos en los que se utilizará este producto, adjunto como respaldo de la calidad del Agua de Plata Coloidal un anexo en el que consta información acerca de equipos de medición calibrados que confirman las concentraciones enviadas.

Sin más que añadir, me despido, esperando los resultados de esta investigación conforme a lo pactado.

Atentamente;

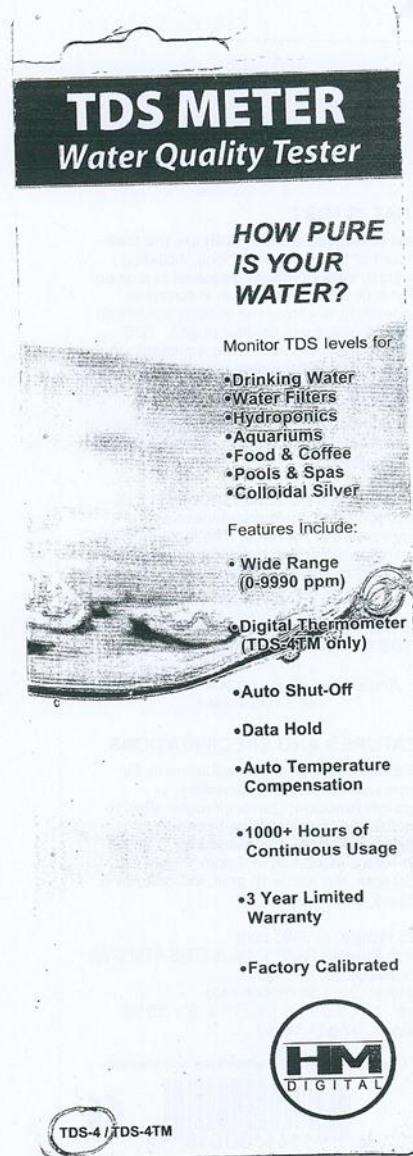


Ing. Osvaldo Carbonari  
GERENTE EMPRESA ARGENTUM

**Documento de certificación de las concentraciones de agua de plata de 4 ppm, 10 ppm y 15 ppm (Cortesía de Ing. Osvaldo Carbonari - ARGENTUM) (Continuación).**

Argentum 

**AGUA COLOIDAL  
DE PLATA**



**TDS METER**  
*Water Quality Tester*


**HOW PURE  
IS YOUR  
WATER?**

Monitor TDS levels for

- Drinking Water
- Water Filters
- Hydroponics
- Aquariums
- Food & Coffee
- Pools & Spas
- Colloidal Silver

Features Include:

- Wide Range (0-9990 ppm)
- Digital Thermometer (TDS-4TM only)
- Auto Shut-Off
- Data Hold
- Auto Temperature Compensation
- 1000+ Hours of Continuous Usage
- 3 Year Limited Warranty
- Factory Calibrated



TDS-4 / TDS-4TM

Dir: Arteta y Calisto 68100 y Machala

Telf: 601 2048 / Cel:099 070 8852

carbonariosvaldo@gmail.com

# Anexo 16: Certificado de Cepa Escherichia coli ATCC 35218



Product Sheet

## Escherichia coli (ATCC® 35218™)

Please read this FIRST

Storage Temp.  
**Frozen: -80°C or colder**  
**Freeze-Dried: 2°C to 8°C**  
**Live Culture: See Propagation Section**

Biosafety Level  
**1**

### Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

### Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Escherichia coli* (ATCC® 35218™)

American Type Culture Collection  
PO Box 1540  
Manassas, VA 20108 USA  
[www.atcc.org](http://www.atcc.org)

800.638.6597 or 703.365.2700  
Fax: 703.365.2750  
Email: [Tech@atcc.org](mailto:Tech@atcc.org)

Or contact your local distributor

Page 1 of 2

### Description

Designation: 1532

Deposited Name: *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers

Product Description: This strain is used in the assay of beta-lactam antibiotics, evaluation of Mueller-Hinton agar, and the quality control strain for susceptibility testing, API, bioMérieux Vitek, and Sensititre products

### Propagation

#### Medium

ATCC® Medium 3: Nutrient agar or nutrient broth

#### Growth Conditions

Temperature: 37°C

Atmosphere: Aerobic

#### Propagation Procedure

1. Open vial according to enclosed instructions.
2. Using a single tube of #3 broth (5 to 6 mL), withdraw approximately 0.5 to 1.0 mL with a Pasteur or 1.0 mL pipette. Rehydrate the entire pellet.
3. Aseptically transfer this aliquot back into the broth tube. Mix well.
4. Use several drops of the suspension to inoculate a #3 agar slant and/or plate.
5. Incubate the tubes and plate at 37°C for 24 hours.

### Notes

Additional information on this culture is available on the ATCC® web site at [www.atcc.org](http://www.atcc.org).

### References

References and other information relating to this product are available online at [www.atcc.org](http://www.atcc.org).

### Biosafety Level: 1

Appropriate safety procedures should always be used with this material. Laboratory safety is discussed in the current publication of the *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* from the U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes for Health.

### ATCC Warranty

The viability of ATCC® products is warranted for 30 days from the date of shipment, and is valid only if the product is stored and cultured according to the information included on this product information sheet. ATCC lists the media formulation that has been found to be effective for this strain. While other, unspecified media may also produce satisfactory results, a change in media or the absence of an additive from the ATCC recommended media may affect recovery, growth and/or function of this strain. If an alternative medium formulation is used, the ATCC warranty for viability is no longer valid.

### Disclaimers

This product is intended for laboratory research purposes only. It is not intended for use in humans.

While ATCC uses reasonable efforts to include accurate and up-to-date information on this product sheet, ATCC makes no warranties or representations as to its accuracy. Citations from scientific literature and patents are provided for informational purposes only. ATCC does not warrant that such information has been confirmed to be accurate.

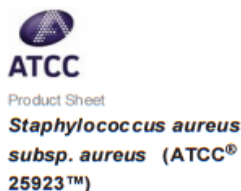
This product is sent with the condition that you are responsible for its safe storage, handling, and use. ATCC is not liable for any damages or injuries arising from receipt and/or use of this product. While reasonable effort is made to ensure authenticity and reliability of strains on deposit, ATCC is not liable for damages arising from the misidentification or misrepresentation of cultures.

Please see the enclosed Material Transfer Agreement (MTA) for further details regarding the use of this product. The MTA is also available on our Web site at [www.atcc.org](http://www.atcc.org)

Additional information on this culture is available on the ATCC web site at [www.atcc.org](http://www.atcc.org).

© ATCC 2015. All rights reserved. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection. [06/15]

## Anexo 17: Certificado de Cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Please read this FIRST

Storage Temp.  
Frozen: -80°C or colder  
Freeze-Dried: 2°C to 8°C  
Live Culture: See Propagation Section

Biosafety Level  
2

#### Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

#### Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC® 25923™)

American Type Culture Collection  
PO Box 1546  
Manassas, VA 20108 USA  
[www.atcc.org](http://www.atcc.org)

800.638.6597 or 703.395.2700  
Fax: 703.395.2790  
Email: [Tech@atcc.org](mailto:Tech@atcc.org)

Or contact your local distributor

Page 1 of 2

#### Description

Designation: Seafle 1945  
Deposited Name: *Staphylococcus aureus* Rosenbach  
Product Description: Quality control strain for the CAMP test, assay of wood smoke concentrate, evaluation of Mueller-Hinton agar, examination of dairy products, media testing, CLSI disk diffusion, and for Abbott, APL, and Autotec products.

#### Propagation

Medium  
ATCC® Medium 18: Trypticase Soy Agar/Broth

Growth Conditions  
Temperature: 37°C  
Atmosphere: Aerobic

Propagation Procedure

1. Open vial according to enclosed instructions.
2. Using a single tube of #18 broth (5 to 6 mL), withdraw approximately 0.5 to 1.0 mL with a Pasteur or 1.0 mL pipette. Rehydrate the entire pellet.
3. Aseptically transfer this aliquot back into the broth tube. Mix well.
4. Use several drops of the suspension to inoculate a #18 agar slant and/or plate.
5. Incubate the tubes and plate at 37°C for 24 hours.

#### Notes

It is advisable to transfer from agar to agar to maintain MIC values.

Several GenBank accessions are available for this item:

1. Nucleotide (GenBank) : AF053568 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 heat shock protein 60 gene, partial cds.
2. Nucleotide (GenBank) : AX110511 Sequence 1244 from Patent WO0123604.
3. Nucleotide (GenBank) : AX110695 Sequence 1728 from Patent WO0123604.
4. Nucleotide (GenBank) : U02910 *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 16S rRNA gene, partial sequence.
5. Nucleotide (GenBank) : U30760 *Staphylococcus aureus* 16S-23S ribosomal RNA spacer region.
6. Nucleotide (GenBank) : Z16422 *S. aureus* *difB* gene for dihydrofolate reductase.
7. Nucleotide (GenBank) : AB047239 *Staphylococcus aureus* DNA, complete structure of cassette chromosome(SCC)-like element, strain ATCC 25923.

Additional information on this culture is available on the ATCC® web site at [www.atcc.org](http://www.atcc.org).

#### References

References and other information relating to this product are available online at [www.atcc.org](http://www.atcc.org).

#### Biosafety Level: 2

Appropriate safety procedures should always be used with this material. Laboratory safety is discussed in the current publication of the *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* from the U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes for Health.

#### ATCC Warranty

The viability of ATCC® products is warranted for 30 days from the date of shipment, and is valid only if the product is stored and cultured according to the information included on this product information sheet. ATCC lists the media formulation that has been found to be effective for this strain. While other, unspecified media may also produce satisfactory results, a change in media or the absence of an additive from the ATCC recommended media may affect recovery, growth and/or function of this strain. If an alternative medium formulation is used, the ATCC warranty for viability is no longer valid.

#### Disclaimers



**Anexo 18: Diseño de experimentos factorial para Mesófilos aerobios.**

**Análisis de Varianza para Mesófilos aerobios**

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>A:concentración</i>	<i>1.21218E7</i>	<i>1</i>	<i>1.21218E7</i>	<i>3.28</i>	<i>0.0735</i>
<i>B:tiempo</i>	<i>1.61466E7</i>	<i>1</i>	<i>1.61466E7</i>	<i>4.37</i>	<b><i>0.0394</i></b>
<i>AB</i>	<i>239900.</i>	<i>1</i>	<i>239900.</i>	<i>0.06</i>	<i>0.7995</i>
<i>Error total</i>	<i>3.40171E8</i>	<i>92</i>	<i>3.69751E6</i>		
<i>Total (corr.)</i>	<i>3.68679E8</i>	<i>95</i>			

### Anexo 19: Diseño de experimentos factorial para Coliformes Totales

#### Análisis de Varianza para Coliformes totales

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
<i>A:concentración</i>	<i>1.04167</i>	<i>1</i>	<i>1.04167</i>	<i>1.04</i>	<i>0.3097</i>
<i>B:tiempo</i>	<i>5.04167</i>	<i>1</i>	<i>5.04167</i>	<i>5.05</i>	<b><i>0.0270</i></b>
<i>AB</i>	<i>1.04167</i>	<i>1</i>	<i>1.04167</i>	<i>1.04</i>	<i>0.3097</i>
<i>Error total</i>	<i>91.8333</i>	<i>92</i>	<i>0.998188</i>		
<i>Total (corr.)</i>	<i>98.9583</i>	<i>95</i>			

**Anexo 20: Diseño de experimentos factorial para *Staphylococcus aureus***

**Análisis de Varianza para *Staphylococcus aureus***

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:concentración	0.84375	1	0.84375	0.12	0.7340
B:tiempo	2.34375	1	2.34375	0.32	0.5713
AB	3.76042	1	3.76042	0.52	0.4735
Error total	667.958	92	7.26042		
Total (corr.)	674.906	95			

**Anexo 21: Tabla de resultados de crecimiento de Mesófilos Aerobios**

<b>MESÓFILOS AEROBIOS MANIPULADORES</b>					
<b>Codificación cafetería</b>	<b>N° Muestras Manipuladores</b>	<b>Muestra Pura ufc/mano</b>	<b>CONTAJELog10 (ufc/mano)</b>	<b>Limite permisible 3000 ufc/mL</b>	<b>LIMITE Log 10 (ufc/mano)</b>
PAP 1	1	10000	4,00	> 3000	3,48
	2	10000	4,00	> 3000	3,48
	3	10000	4,00	> 3000	3,48
	4	900	2,95	> 3000	3,48
	5	10000	4,00	> 3000	3,48
	6	10000	4,00	> 3000	3,48
	7	10000	4,00	> 3000	3,48
	8	10000	4,00	> 3000	3,48
	9	10000	4,00	> 3000	3,48
	10	10000	4,00	> 3000	3,48
	11	10000	4,00	> 3000	3,48
	12	10000	4,00	> 3000	3,48
	13	9700	3,99	> 3000	3,48
	14	26900	4,43	> 3000	3,48
PAP 2	15	26900	4,43	> 3000	3,48
	16	46000	4,66	> 3000	3,48
	17	25400	4,40	> 3000	3,48
	18	18000	4,26	> 3000	3,48
PAP 3	19	76000	4,88	> 3000	3,48
	20	22000	4,34	> 3000	3,48
PAP 4	21	9200	3,96	> 3000	3,48
	22	3200	3,51	> 3000	3,48
	23	10000	4,00	> 3000	3,48
	24	10000	4,00	> 3000	3,48

**Anexo 22: Tabla de resultados de crecimiento de Coliformes totales**

<b>COLIFORMES TOTALES MANIPULADORES</b>					
<b>Codificación cafetería</b>	<b>N° Muestras Manipuladores</b>	<b>Muestra Pura ufc/mano</b>	<b>CONTAJE Log 10 (ufc/mano)</b>	<b>Limite permisible ≤100 ufc/mL</b>	<b>LIMITE Log10 (ufc/mano)</b>
PAP 1	1	8200	3,91	> 100	2
	2	0	-	< 100	2
	3	0	-	< 100	2
	4	100	2,00	≤100	2
	5	600	2,78	> 100	2
	6	100	2,00	≤100	2
	7	100	2,00	≤100	2
	8	200	2,30	> 100	2
	9	3700	3,57	> 100	2
	10	0	-	< 100	2
	11	200	2,30	> 100	2
	12	300	2,48	> 100	2
	13	500	2,70	> 100	2
	14	600	2,78	> 100	2
PAP 2	15	1000	3,00	> 100	2
	16	300	2,48	> 100	2
	17	900	2,95	> 100	2
	18	200	2,30	> 100	
PAP 3	19	0	-	< 100	2
	20	0	-	< 100	2
PAP 4	21	100	2,00	≤100	2
	22	0	-	< 100	2
	23	0	-	< 100	2
	24	100	2,00	≤100	2

**Anexo 23: Tabla de resultados de crecimiento de *Escherichia coli***

<b><i>Escherichia coli</i></b> <b>MANIPULADORES</b>			
<b>Codificación cafetería</b>	<b>N° Muestras Manipuladores</b>	<b>Muestra Pura ufc/mano</b>	<b>Limite permisible AUSENCIA (A)</b>
PAP 1	1	0	A
	2	0	A
	3	0	A
	4	0	A
	5	0	A
	6	0	A
	7	0	A
	8	0	A
	9	0	A
	10	0	A
	11	0	A
	12	0	A
	13	0	A
PAP 2	14	1	PRESENCIA
	15	0	A
	16	0	A
	17	0	A
	18	0	A
PAP 3	19	0	A
	20	0	A
PAP 4	21	0	A
	22	0	A
	23	0	A
	24	0	A

**Anexo 24: Tabla de resultados de crecimiento de *Staphylococcus aureus***

<b><i>Staphylococcus aureus</i></b> <b>MANIPULADORES</b>					
<b>Codificación cafetería</b>	<b>N° Muestras Manipuladores</b>	<b>Muestra Pura ufc/mano</b>	<b>CONTAJE Log10 (ufc/mano)</b>	<b>Limite permisible ≤100 ufc/mL</b>	<b>LIMITE Log10 (ufc/mano)</b>
PAP 1	1	400	2,60	< 100	2
	2	600	2,78	> 100	2
	3	0	-	< 100	2
	4	0	-	< 100	2
	5	0	-	< 100	2
	6	0	-	< 100	2
	7	0	-	< 100	2
	8	300	2,48	> 100	2
	9	0	-	< 100	2
	10	0	-	< 100	2
	11	0	-	< 100	2
	12	0	-	< 100	2
	13	0	-	< 100	2
	14	0	-	< 100	2
PAP 2	15	2900	3,46	> 100	2
	16	400	2,60	> 100	2
	17	900	2,95	> 100	2
	18	500	2,70	> 100	
PAP 3	19	100	2,00	≤100	2
	20	0	-	< 100	2
PAP 4	21	900	2,95	> 100	2
	22	700	2,85	> 100	2
	23	100	2,00	≤100	2
	24	300	2,48	> 100	2

## **Anexo 25: Documento de autorización muestreos proyecto PUCE 2014**

Nombre del Gerente a cargo: .....

Local 1: Cafeterías PUCE Edificio Administrativo.....

Local 2: Cafeterías PUCE Centro Cultural.....

Local 3: Cafeterías PUCE Auditorio.....

Se solicita la autorización para realizar muestreos en estos locales como parte del Proyecto “*Aplicaciones del Agua de Plata como agente bactericida en matrices varias como alimentos preparados listos para el consumo sin tratamiento térmico (ensaladas), superficies y utensilios que tienen contacto con alimentos, solución de enjuague para los manipuladores investigación realizada en Cafeterías de un Centro de Educación Superior*”, fechas probables de los muestreos desde marzo hasta agosto de acuerdo al cronograma planteado en el proyecto.

Los muestreos a realizarse comprenden:

Muestras de ensaladas que utilicen ingredientes que no han sido tratados con procesos de cocción

Muestras de hisopados de superficies y utensilios que tengan relación con preparación de alimentos

Muestras de enjuagues de manos de manipuladores

En el desarrollo del proyecto se mantendrá la confidencialidad de los resultados obtenidos, además las muestras utilizadas tendrán una codificación que será manejada únicamente por el personal que está en la investigación y el Gerente a cargo de los locales.

Sin más que añadir, me suscribo de usted;

Atentamente;

Mgr. Elena Granda M.

.....

**Director Proyecto**

**Gerente Locales Cafeterías PUCE**

**Anexo 26: Formulario Control de Temperaturas (Refrigeradora - Incubadora)**

**Proyecto K13101**

<b>FECHA</b>	<b>T° C Incubadora</b>	<b>T° C Refrigeradora</b>	<b>Nombre Responsable</b>