



## **DEPARTAMENTO DE POSTGRADOS**

**Evaluación de la calidad microbiológica en superficies inertes en las picanterías de la parroquia el Batán de la ciudad de Cuenca.**

**MAGISTER EN GESTIÓN DE LA CALIDAD Y SEGURIDAD ALIMENTARIA**

**AUTOR: GABRIELA NOEMÍ JIMÉNEZ HERRÁEZ**

**DIRECTOR: MÓNICA TINOCO ALVEAR**

**CUENCA – ECUADOR**

**2016**

## DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mi Esposo William Álvarez por estar conmigo en aquellos momentos en que el estudio y el trabajo ocuparon mi tiempo y esfuerzo. Su cariño, comprensión y paciente espera para que pudiera terminar esta Maestría son evidencia de su gran amor. ¡Gracias Esposito mío!

A mis hijos: Ian y Dylan que por su amor infinito esperando tan largos días para poder dedicarles todo el tiempo merecido.

¡LOS AMO!

## **AGRADECIMIENTOS**

El presente trabajo de tesis primeramente me gustaría agradecerle a ti Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A mi directora de tesis, Ing. Mónica Tinoco por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar mis estudios con éxito.

También me gustaría agradecer a mis profesores y amigos durante toda mi carrera profesional porque todos han aportado con un granito de arena a mi formación.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional alas que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

## RESUMEN

El presente estudio tiene como objetivo evaluar la calidad microbiológica de las superficies inertes (mesas de trabajo, tablas de picar, cuchillos, vasos, franelas de limpieza) en las Picanterías de la Parroquia El Batán de la Ciudad de Cuenca, así como también la validación in vivo e in vitro de los desinfectantes (Clorox y Kalipto) usados por los establecimientos objetos de estudio. Se realizaron análisis de las superficies inertes antes y después de la desinfección, para lo cual se aplicó la Guía Técnica Peruana Resolución Ministerial N° 461-2007 MINSA y la técnica de esparcido superficial en caja Petrifilm para el recuento de Coliformes y *Escherichia coli*.

Los estudios de validación in vivo e in vitro de los agentes desinfectantes se realizaron mediante determinación de la eficiencia Germicida Porcentual y la aplicación de la técnica del Susceptibilidad microbiana probándose concentraciones: la recomendada, el doble, la mitad y la utilizada de manera habitual por los establecimientos y en diferentes tiempos: 5, 10 y 15 minutos frente a cepas de *Escherichia coli* ATCC25922.

Los resultados demuestran que la carga microbiológica de las superficies inertes es significativa para Coliformes Totales y *Escherichia coli* y que el Clorox es eficaz en todas las concentraciones y tiempos a diferencia del Kalipto que en la concentración y tiempo usado habitualmente no es eficaz.

## PALABRAS CLAVE

Superficies, Desinfectante, Concentraciones, microorganismos.

**ABSTRACT Y KEY WORDS****ABSTRACT**

This study aims to assess the microbiological quality of inert surfaces (desks, cutting boards, knives, glasses, cleaning dusters) in the *Picanterías* (eateries) located in *El Batán* parish in the City of Cuenca, as well as the in-vivo and in-vitro validation of the disinfectants (Clorox and Kaliptus) used by the eateries under study. An analysis of inert surfaces was performed before and after disinfection, for which the ministerial resolution No. 461-2007/MINSA (Technical Guidance for the microbiological testing of surfaces in contact with food and drink – Peruvian Standard), and the Petrifilm spread plates technology for counting Coliform and *E. coli* were applied. The validation of in-vivo and in-vitro assays of disinfectants was performed by determining the percentage on germicidal efficiency and by the application of antimicrobial susceptibility testing on *E. coli* ATCC 25922 strains, and on the following concentrations: the recommended one, double, half, and the regularly used by food establishments; and at different times: 5, 10 and 15 minutes. The results show that the microbial load on inert surfaces is significant for total coliforms and *E. coli*, and Clorox is effective at all concentrations and times, unlike *Kalipto* which is not effective in the concentration and time used.

**KEYWORDS:** Surfaces, Disinfectant, Concentrations, Microorganisms.

  
*Lourdes Crespo*  
UNIVERSIDAD DEL  
AZUAY  
Dpto. Idiomas

  
Translated by,  
Lic. Lourdes Crespo

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iii
<b>RESUMEN</b> .....	iv
<b>PALABRAS CLAVE</b> .....	iv
<b>ABSTRACT Y KEY WORDS</b> .....	v
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b> .....	vi
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b> .....	x
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>Biofilms</b> .....	2
<b>Importancia de Control Higiénico en las Superficies Alimentarias</b> .....	3
<b>Propiedades de un buen desinfectante</b> .....	3
<b>Tipos de Desinfectantes</b> .....	4
<b>Factores que afectan la acción de los desinfectantes</b> .....	5
<b>Desinfectantes a validar</b> .....	6
<b>Comparación de la Actividad de los desinfectantes</b> .....	7
<b>Hipótesis:</b> .....	7
<b>Objetivo general:</b> .....	7
<b>Objetivos específicos:</b> .....	7
<b>CAPÍTULO I</b> .....	8
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	8
<b>1.1 Descripción del sitio de estudio</b> .....	8
<b>1.2 Metodología</b> .....	8
<b>1.2.1 Análisis microbiológicos:</b> .....	9
<b>1.2.2 Cálculo y expresión de resultados</b> .....	9
<b>1.3 Método de Evaluación de los Desinfectantes in vivo</b> .....	9
<b>1.4 Métodos de Evaluación de Desinfectantes in vitro</b> .....	9
<b>1.4.1 Determinación de la Eficiencia Germicida Porcentual</b> .....	10
<b>1.4.2 Susceptibilidad Microbiana</b> .....	11

<b>CAPÍTULO II</b> .....	12
<b>RESULTADOS</b> .....	12
<b>2.1 Diagnóstico Situacional</b> .....	12
<b>2.2 Promedio de Microorganismos en Superficies inertes analizadas de las picanterías</b> .....	12
<b>2.3 Comparación de los niveles de Coliformes totales y Escherichia coli con la Norma Peruana</b> .....	14
<b>2.4 Comparación de la carga microbiana antes y después del procedimiento de limpieza y/o desinfección</b> .....	15
<b>2.5 Eficiencia Germicida Porcentual de los Desinfectantes in vitro.</b> .....	18
<b>2.6 Eficiencia Germicida Porcentual de los Desinfectantes in vivo.</b> .....	19
<b>2.7 Susceptibilidad Microbiana</b> .....	21
<b>2.8 Análisis de Varianza de un factor para las variables tiempo de exposición y tipo de desinfectante.</b> .....	23
<b>2.8.1 Análisis de Varianza de un factor a la concentración utilizada de los diferentes desinfectantes por las Picanterías.</b> .....	23
<b>2.9 Capacitación del Personal</b> .....	25
<b>CAPÍTULO III</b> .....	26
<b>DISCUSIÓN</b> .....	26
<b>CONCLUSIONES</b> .....	29
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	31
<b>ANEXOS</b> .....	34

## ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Promedio del recuento total (UFC) para Coliformes totales y Escherichia coli en tablas de picar y mesones de los cinco expendios de comida.....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 2. Promedio del recuento total (UFC) para Coliformes totales y Escherichia coli en vasos de los cinco expendios de comida. ....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 3. Promedio del recuento total (UFC) para Coliformes totales y Escherichia coli en Cuchillos y Franelas de los cinco expendios de comida. ....</i>	<i>14</i>
<i>Figura 4. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Tablas de Picar antes y después de la desinfección.....</i>	<i>15</i>
<i>Figura 5. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Mesones antes y después de la desinfección.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 6. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Vasos antes y después de la desinfección.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 7. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Cuchillos antes y después de la desinfección.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 8. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Franelas antes y después de la desinfección.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 9. Comparación de la Carga microbiana del Mesón antes y 15 minutos después de la desinfección con Kalipto.....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 10. Comparación de la Carga microbiana de la Franela antes y 15 minutos después de la desinfección con Kalipto.....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 11. Comparación de la Carga microbiana del Mesón antes y 15 minutos después de la desinfección con Clorox. ....</i>	<i>20</i>
<i>Figura 12. Comparación de la Carga microbiana de la Franela antes y 15 minutos después de la desinfección con Clorox.....</i>	<i>21</i>

**ÍNDICE DE TABLAS**

<i>Tabla 1. Espectro de actividad de los principales sanitizantes .....</i>	<i>4</i>
<i>Tabla 2. Niveles de UFC de Coliformes totales y Escherichia coli en Superficies inertes Regulares frente a valores permisibles de la Norma Peruana.....</i>	<i>14</i>
<i>Tabla 3. Niveles de UFC de Coliformes totales y Escherichia coli en Superficies inertes Irregulares frente a valores permisibles de la Norma Peruana.....</i>	<i>15</i>
<i>Tabla 4. Eficiencia Germicida Porcentual del desinfectante Clorox in vitro.....</i>	<i>18</i>
<i>Tabla 5. Eficiencia Germicida Porcentual del desinfectante Kalipto in vitro.....</i>	<i>19</i>
<i>Tabla 6. Eficiencia Germicida Porcentual del desinfectante Clorox in vivo.....</i>	<i>21</i>
<i>Tabla 7. Eficiencia Germicida Porcentual del desinfectante Kalipto in vivo.....</i>	<i>21</i>
<i>Tabla 8. Resultados de la prueba de susceptibilidad microbiana de Escherichia coli ATCC 25922 frente al desinfectante Kalipto.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabla 9. Resultados de la prueba de susceptibilidad microbiana de Escherichia coli ATCC 25922 frente al desinfectante Clorox.....</i>	<i>22</i>
<i>Tabla 10. Análisis de varianza de un factor para la variable tiempo.....</i>	<i>23</i>
<i>Tabla 11. Análisis de varianza de un factor para la variable desinfectante.....</i>	<i>24</i>

## ÍNDICE DE ANEXOS

<i>Anexo 1. Lista de verificación para el diagnóstico inicial de los expendios de comida. ....</i>	<i>34</i>
<i>Anexo 2. Fotografías de superficies inertes de las Picanterías al inicio del estudio.....</i>	<i>36</i>
<i>Anexo 3. Fotografías de superficies inertes de las Picanterías al final del estudio. ....</i>	<i>37</i>
<i>Anexo 4. Uso adecuado de vestimenta por el personal manipulador de alimentos .....</i>	<i>38</i>

Gabriela Noemí Jiménez Herráez  
Trabajo de Graduación  
Mgt. Mónica Tinoco Alvear  
Enero, 2016

## **EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA EN SUPERFICIES INERTES EN LAS PICANTERÍAS DE LA PARROQUIA EL BATÁN DE LA CIUDAD DE CUENCA.**

### **INTRODUCCIÓN**

A nivel mundial, las ETAS (enfermedades transmitidas por los alimentos) no han logrado ser controladas en su totalidad, puesto que nacen de una manipulación inadecuada de los alimentos a la hora de ser preparados, siendo vías de contaminación superficies inertes (mobiliario, utensilios y equipos) y superficies vivas (manipuladores).

Las malas prácticas de manipulación de los alimentos y el desconocimiento del concepto de contaminación cruzada por parte de los manipuladores de alimentos, potencia el riesgo de contraer las llamadas ETAS, con consecuencias desastrosas para la salud de la población.

La prevalencia de las enfermedades transmitidas por los alimentos en la Ciudad de Cuenca se demuestra en un estudio realizado en el año 2012, en el cual revela la información recopilada de 21 establecimientos de salud tanto públicos como privados, donde: en hospitales se atendieron 2590 casos siendo el mayor porcentaje de gastroenteritis de origen infeccioso con 58,84%, disentería amebiana aguda con 15,91%; en centros de salud se atendieron 17608 casos, donde el mayor porcentaje de gastroenteritis de origen infeccioso con 60,39%, disentería amebiana aguda con 28,83% ; y en clínicas un total de 4101 casos, donde el mayor porcentaje corresponde a gastroenteritis de origen infeccioso con 65,89% y disentería amebiana aguda con 23,92%; los porcentajes restantes corresponden a salmonelosis, shigelosis, cólera, teniasis, cisticercosis, etc. (Ministerio de Salud Pública, 2012)

Lo anterior representa que la población es altamente vulnerable a las Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAS), y que está también expuesta a alimentos potencialmente contaminados, dados los hábitos alimenticios que prevalecen en nuestro país y a las condiciones sanitarias en las que se expenden los alimentos.

El consumo masivo de alimentos, en lugares como restaurantes, escuelas, etc., aumenta a niveles significativos como consecuencia del estilo de vida de las personas; es así, que la preparación de los alimentos en condiciones higiénico sanitarias inadecuadas es más

notoria en las Picanterías de la Parroquia El Batán; esto debido a situaciones de cultura por lo que desconocen de temas de inocuidad y seguridad alimentaria, además que no cuentan con los recursos necesarios para las diversas modificaciones y adecuaciones que requieren, lo cual conlleva a que la calidad y seguridad del producto final no sea la óptima y de esta manera afectando la salud del consumidor.

Es por ello, que en la actualidad la vigilancia y control a nivel de todo establecimiento que manipula alimentos es una prioridad, en donde consideran que las etapas de limpieza y desinfección son de gran importancia para obtener un producto inocuo y seguro a más de controlar diseño de instalaciones, equipos, control de operaciones e higiene del personal. En Ecuador, los requisitos sanitarios mínimos que deben cumplir los establecimientos de elaboración y expendio de alimentos, se hallan contemplados en la LEY ORGÁNICA DE SALUD Ley No. 2006.

Finalmente, el propósito de esta investigación es garantizar un producto seguro para el consumidor, a más de aportar con información y capacitar a quienes intervienen en el proceso de elaboración de alimentos; además, de brindar una solución en cuanto a la limpieza y desinfección disminuyendo los riesgos inherentes en esta etapa donde suelen presentarse problemas de contaminación cruzada, por ello, en esta investigación se valida los desinfectantes utilizados en cada una de las picanterías.

Por todo lo mencionado anteriormente, para este estudio se contemplan algunos temas que se tratan a continuación.

### **Biofilms**

Las bacterias que colonizan las superficies pueden actuar como un reservorio de microorganismos alterantes y patógenos, los mismos que se encuentran en el medio ambiente de manera combinadas en grandes colonias, donde los diversos microorganismos establecen relaciones y dependencias formando los llamados biofilms, donde su presencia puede ser perjudicial, puesto que en muchos casos producen contaminación del producto acabado, lo cual se traduce en una reducción del período de conservación y en la transmisión potencial de enfermedades. (Valls, 2006)

Para la formación de biofilms, *Escherichia coli* emplea flagelos, pilis y proteínas de membrana para iniciar la adhesión. Cuando ya está unida a la superficie pierde sus flagelos e incrementa la producción de sustancias poliméricas extracelulares. Algunos estudios han puesto de manifiesto que cepas de *Escherichia coli* O157:H7 pueden desarrollar biofilms como resultado de una mayor producción de expolisacáridos. (Peña, 2010)

Además, se ha demostrado que la formación de biofilm proporciona una mayor resistencia a *Escherichia coli* O157:H7 cuando se expone a soluciones de hipoclorito, uno de los desinfectantes de mayor uso en la industria alimentaria (Wilks S.A., 2005)

Es de importancia para este estudio indicar que todas las bacterias tienen la capacidad de formar biofilms y entre las patógenas encontramos a *Escherichia coli*, siendo muy difíciles de erradicar debido a que son extremadamente resistentes a los desinfectantes. (Tomás Rojas, 2012)

### **Importancia de Control Higiénico en las Superficies Alimentarias**

La desinfección de las superficies es fundamental para garantizar la inocuidad de los alimentos y evitar que puedan causar toxiinfecciones alimentarias. Todos los equipos y utensilios de las zonas de trabajo deben ser desinfectados para asegurar condiciones higiénicas suficientes para lograr este objetivo.

Los defectos de las superficies actúan como puntos de retención de microorganismos y materia orgánica, donde se acumula suciedad y son de difícil limpieza, proporcionando protección a los microorganismos, haciendo que las bacterias sobrevivientes puedan multiplicarse y formar biofilms.

El conocimiento de la flora bacteriana residente en las superficies genera información valiosa para el diseño de un programa de limpieza y desinfección, donde los análisis microbiológicos constituyen uno de los métodos de evaluación de la higiene de utensilios y demás superficies inertes que entran en contacto con los alimentos.

### **Propiedades de un buen desinfectante**

Para la selección de un desinfectante este debe cumplir con las siguientes propiedades: (García, 1989)

- No debe producir olor, sabor, colores extraños
- No debe ser tóxico a las dosis de empleo
- No ejercer una acción perjudicial sobre las superficie a tratar
- Ser efectivo en condiciones de temperatura, tiempo de contacto, pH y grado de contaminación en que debe ser utilizado.
- Estable y fácilmente soluble en agua
- Eficaz sobre el espectro de microorganismos a tratar
- Eficaz en presencia de materia orgánica
- Destrucción de microorganismos en corto tiempo

## Tipos de Desinfectantes

Las principales familias de los desinfectantes son: (Betelgeux, 2015)

- Productos oxidantes: productos halogenados: cloro, yodo, peróxido de hidrógeno, etc.; son bactericidas muy útiles y muy potentes. Alteran grupos funcionales de ácidos nucleicos, componentes de pared y de membrana.
- Productos reductores: como el glutaraldehído, son biocidas de amplio espectro, con eficacia frente a bacterias, mohos, virus, y también frente a micobacterias. Activos tanto sobre células vegetativas como sobre esporas, que ejercen su efecto letal por su acción alquilante de proteínas y ácidos nucleicos.
- Alcoholes: son muy activos con microorganismos con capa lipídica ya que Los alcoholes desorganizan las bicapas lipídicas, actuando sobre bacterias gram negativas y gram positivas, incluyendo micobacterias, hongos y virus
- Fenoles: para desinfección de superficies. Son rápidamente bactericidas a bajas concentraciones, causando: daños a membranas, con pérdida de constituyentes citoplásmicos; inactivación irreversible de oxidasas y deshidrogenasas de membrana; desnaturalización de proteínas.
- Productos basados en tensoactivos: amonios cuaternarios, son bactericidas, fungicidas y virucidas y producen daño en la integridad estructural de la membrana.

En la tabla 1 se detalla el espectro de la actividad bactericida de los principales sanitizantes.

Tabla 1. Espectro de actividad de los principales sanitizantes

Sanitizantes	Bacterias Gram +	Bacterias Gram -	Micobacterias	Esporas	Mohos	Levaduras	Virus fagos
Ácido peracético	+++	+++		++	++	++	++
Alcoholes	++	++		0	++	++	+
Alcoholes de 70°	++	++	0	+	+	++	+
Glutaraldehido	+++	+++	++	+	+++ (+)	++ (+)	++
Amonios cuaternarios	+++	++	0	0	+	+	+
Anfóteros	+++	+		0	+	+	0
Biquanidina	++	++		0	(+)	(+)	0
Clorhexidina	++	++	+	0	+	+	0
Cloro	+++	+++	++	++	++	++	++
Derivados del mercurio	++	++	0	0	+	+	
Derivados fenólicos	Actividad	Variable	Según	el	Compuesto		
Agua oxigenada	+++	+++	+++	+	+	+	0
Yodo	+++	+++	+++	++	++	++	++

+++ : Muy buena actividad; ++ buena actividad; +: actividad media; 0: actividad nula; +/- actividad débil; (+): actividad no constante.

Fuente (Bouix M. Leveau, 2002)

## Factores que afectan la acción de los desinfectantes

Además existen factores que afectan la acción de los desinfectantes siendo estos: (María José Argerich González et al, 2005)

- **Tipo de microorganismos:** Las bacterias se diferencian en bacterias Gram + y bacterias Gram -. En las bacterias Gram +, como en *Staphylococcus aureus*, el espesor de la membrana citoplasmática oscila entre 20-80 nm; en tanto que en bacterias Gram -, como *Escherichia coli*, su espesor oscila entre 10-15 nm. Sin embargo, la pared de las bacterias Gram - es más compleja que las de las bacterias Gram +. Esta mayor complejidad proporciona a la pared un mayor grado de impermeabilidad a las sustancias, excepto para aquellas que pueden penetrar por los poros de las células. Por tanto, las bacterias Gram - son menos sensibles a los desinfectantes que las bacterias Gram +, constituyendo, de este modo, un medio de resistencia de las bacterias a los agentes antimicrobianos, y pueden causar contaminaciones de los alimentos, resistir los tratamientos térmicos o de conservación y ocasionar toxiinfección alimentaria.(Desinfectantes utilizados en la Industria Alimentaria)
- **Número de microorganismos:** siendo elevada la carga microbiana se necesita mayor cantidad de desinfectante, o un tiempo mayor de exposición para conseguir un determinado nivel de desinfección.
- **Tiempo de actuación y concentración del producto:** generalmente al aumentar el tiempo de contacto, aumenta la tasa de letalidad y a mayor concentración mayor eficacia.
- **Factores Físico- Químicos:** Al aumentar la temperatura aumenta la eficacia de muchos desinfectantes, siempre que ésta no sea tan alta que los descomponga y suponga una pérdida de actividad. El pH puede influir en la actividad antimicrobiana por alteración de la molécula desinfectante o de la superficie de las células. El aumento de pH mejora la actividad antimicrobiana de algunos desinfectantes (glutaraldehído, compuestos de amonio cuaternario,...) y disminuye la actividad de otros (fenoles o hipocloritos).
- **Materia Orgánica:** interfiere en la acción del desinfectante debido a que la materia orgánica inactiva ciertos desinfectantes. Puede interferir con la actividad antimicrobiana de los desinfectantes de dos maneras; por un lado puede comportarse como una barrera que protege a los microorganismos del ataque de los desinfectantes. Por otro algunos desinfectantes, como los derivados clorados y

yodados, reaccionan químicamente con la materia orgánica dando complejos con menor actividad.

- **Superficie de actuación:** la principal limitación reside en los problemas de acceso a zonas con ranuras, grietas, puntos ciegos, manchas de corrosión.
- **Biofilms.**

### **Desinfectantes a validar**

#### Cloro y Compuestos de Cloro:

El desinfectante considerado en este estudio es el Clorox cuyo agente activo es el hipoclorito de sodio.

Los desinfectantes más ampliamente utilizados de los compuestos clorados son los hipocloritos, están disponibles como líquidos (Ej. hipoclorito de sodio) o sólido (Ej. hipoclorito de calcio). Tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana, no dejan residuos tóxicos, no son afectados por la dureza del agua, son baratos y de acción rápida, remueven los microorganismos y los biofilms secos o fijados en las superficies y tienen una incidencia baja de toxicidad. (Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, 2011)

El mecanismo de acción incluye cambios en la permeabilidad de la membrana celular al desnaturar las proteínas, inhibe las enzimas esenciales por oxidación de los grupos sulfhidrilos. Es decir, al ser agentes altamente oxidantes causan destrucción total de la membrana celular. Los compuestos que liberan cloro, son sensibles tanto para las bacterias Gram positivas como para las Gram negativas; además presentan cierta actividad frente a las esporas bacterianas. (Marriot N, 2003)

Las desventajas de los hipocloritos incluyen corrosividad a los metales en altas concentraciones (>500 ppm), la inactivación por la materia orgánica.

#### Compuestos de amonio cuaternario

El desinfectante motivo de estudio es el Kalipto cuyo agente activo es el bromuro de cetiltrimetil amonio. Los compuestos de amonio cuaternario son ampliamente utilizados como desinfectantes, conocidos también como Quats y tienen actividad surfactante y son de diversas generaciones. Son incoloros, inodoros no irritantes y tienen acción detergente.

Actividad microbicida: actúan frente a las bacterias Gram positivas, siendo menos eficaces frente a las Gram negativas.(Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, 2011)

La acción bactericida de los amonios cuaternarios se ha atribuido a la inactivación de las enzimas productoras de energía, a la desnaturalización de las proteínas esenciales de la célula, y a la interrupción de la membrana de la célula; evitan que la bacteria tome nutrientes y previene la eliminación de desechos que se acumulan dentro de su estructura. En efecto la célula muere por falta de nutrientes y por acumulación de desechos en su interior.(Marriot N, 2003)

### **Comparación de la Actividad de los desinfectantes**

Comparados con los hipocloritos los Quats son más caros pero poseen muy buenas propiedades: no son corrosivos, no son irritantes de la piel salvo a grandes concentraciones, por lo que pueden manipularse con bastante seguridad, son poco afectados por la presencia de materia orgánica; situación que no ocurre con los hipocloritos que son inactivados en presencia de la misma.

Los Quats forman con frecuencia una espuma vigorosa en solución por lo que no se recomienda para los sistemas de limpieza in situ, situación que se contrapone a los hipocloritos que son aptos para limpiezas in situ.

**Hipótesis:** Es posible que las superficies inertes de Picanterías de la Parroquia El Batán de la Ciudad de Cuenca sean un riesgo de contaminación de los alimentos.

**Objetivo general:** Determinar la carga microbiológica de las superficies inertes en las Picanterías de la Parroquia El Batán de la Ciudad de Cuenca.

### **Objetivos específicos:**

- Evaluar las condiciones higiénico sanitarias iniciales de las picanterías.
- Conocer la carga microbiana de superficies inertes (mesas de preparación, tablas de picar, cuchillos, vasos, toallas de limpieza).
- Determinar las concentraciones adecuadas de los desinfectantes.
- Establecer medidas que contribuyan a disminuir el grado de contaminación microbiológica en los alimentos.
- Capacitar al personal que manipula los alimentos.

## CAPÍTULO I

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 1.1 Descripción del sitio de estudio

Se seleccionaron 5 picanterías de la Parroquia El Batán de la Ciudad de Cuenca, número de establecimientos inspeccionados por la Agencia Nacional de Control y Vigilancia Sanitaria en el año 2014 en la mencionada parroquia, los mismos que fueron muestreados durante los meses de septiembre, octubre y noviembre.

#### 1.2 Metodología

Para la realización de los métodos utilizados en el presente trabajo, se aplicó la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, Resolución Ministerial N° 461 – MINSa y Control Microbiológico de los Alimentos: toma, envío y preparación de Muestras para el Análisis Microbiológico: Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2:1999.

En inicio se realizó una inspección visual del establecimiento con el propósito de evaluar las condiciones higiénicas sanitarias, los métodos de higiene y saneamiento de los manipuladores y a su vez observar las condiciones en las que se opera diariamente.

Se elaboró una lista de verificación con la cual se realizó el diagnóstico inicial del establecimiento y en base a las falencias encontradas se procedió con los análisis correspondientes a superficies inertes. (Ver Anexo 1).

Las superficies inertes a ser analizadas fueron: tablas de picar, vasos, cuchillos, mesones y franelas, y para la toma de muestras de estas superficies inertes se utilizaron los métodos de Hisopo y Enjuague, descritos en la Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas, Resolución Ministerial N° 461 – MINSa. Para la toma, envío, preparación de muestras para el análisis microbiológico” se llevó a cabo según se explica en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 1 529-2:1999.

Las réplicas realizadas en cada uno de estos establecimientos fueron cuatro muestras por cada una de las superficies inertes.

### **1.2.1 Análisis microbiológicos:**

Los análisis microbiológicos para este estudio se realizaron utilizando técnicas de determinación rápida como la técnica de recuento en placa Petrifilm 3M.

1. Se realizó las diluciones necesarias a partir de la muestra original.
2. Se inoculó 1mL de cada una de las diluciones en las placas Petrifilm 3M para el Recuento de Escherichia coli y Coliformes Totales.
3. Se procedió a incubar a 37 °C durante 24 – 48 horas.
4. Se realizó el conteo de colonias. Contar todas las colonias de color rojo y azul asociadas a gas como coliformes y todas las colonias de color azul asociadas a gas como Escherichia coli.

### **1.2.2 Cálculo y expresión de resultados**

Para superficies regulares: el número de colonias obtenidas (UFC) se multiplicó por el factor de dilución y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (10mL) y se dividió entre el área de la superficie hisopada o muestreada (100cm<sup>2</sup>) y se expresó en UFC/cm<sup>2</sup>.

Para superficies irregulares: el número de colonias obtenidas en (UFC), se multiplicó por el factor de dilución y por el volumen de la solución diluyente usada y se expresó en UFC/superficie muestreada. Se debe expresar la cantidad de superficies muestreadas.

### **1.3 Método de Evaluación de los Desinfectantes in vivo**

Este procedimiento se realizó luego de la desinfección en mesones de trabajo y franelas de limpieza de las Picanterías 1, 2, 4, y 5; donde se probó únicamente la concentración utilizada de manera rutinaria por los establecimientos de cada uno de los desinfectantes (Clorox y kalipto) para de esta manera comprobar si los desinfectantes presentan la misma efectividad que en las pruebas in vitro.

### **1.4 Métodos de Evaluación de Desinfectantes in vitro**

Se considera que un desinfectante es eficaz cuando se aplica en las concentraciones y tiempos recomendados por el fabricante y reduce rápidamente el número de microorganismos patógenos a niveles seguros para la salud pública.

Para la evaluación de los desinfectantes, en este estudio se emplearán los métodos que se exponen a continuación.

#### **1.4.1 Determinación de la Eficiencia Germicida Porcentual**

Como criterio de Eficacia, se utilizó el Test de Chambers, el cual señala que para que un desinfectante sea considerado bueno, el porcentaje de reducción microbiana debe ser del 99,999% a los 30 segundos de haberlo aplicado a la concentración recomendada y con una carga inicial de aproximadamente  $10^7$  a  $10^8$  microorganismos.

Para determinar la Eficiencia Germicida Porcentual de los desinfectantes se realizaron los siguientes pasos:

1. Preparación de la suspensión microbiológica
  - Se incubó Escherichia coli ATCC 25922 en Mueller Hinton a 37 °C por 24 horas.
  - Preparar la suspensión bacteriana en suero fisiológico a una concentración de  $3 \times 10^8$  UFC/mL.
  - Comparar con el patrón McFarland correspondiente a esta dilución.
2. Prueba de Viabilidad (No)
  - Se preparó 5 diluciones seriadas partiendo de la concentración de  $3 \times 10^8$  UFC/mL y se sembró una alícuota de la última dilución en Agar nutritivo a 37 °C por 24 horas.
3. Preparación de Soluciones Sanitizantes
  - Se preparó las soluciones a ser validadas 5 minutos antes de la aplicación con agua destilada a temperatura ambiente para evitar pérdidas por volatilidad en la concentración recomendada por el fabricante, al doble, a la mitad y a la concentración aplicada por las picanterías.
4. Ensayo Cuantitativo In Vitro (Nt)
  - Se colocó 2mL del sanitizante + 0.2mL de la suspensión microbiológica. (Dilución 1/10)
  - Se realizó diluciones hasta  $10^{-5}$ .
  - Se sacaron alícuotas a los 5, 10 y 15 minutos de cada una de las diluciones y muestra original.

- Se colocó las alícuotas en cajas petri y luego se vertió 15 mL del agar nutritivo. Adicional se realizó un control positivo del microorganismo.
- Se incubó los agares a 37 °C x 24 horas.
- Se realizó el conteo de colonias expresando los resultados: Número de UFC/mL: # de conteo de colonias x factor de dilución.

5. Eficiencia Germicida Porcentual (%E):

$$\%E = (N_0 - N_t/N_0) \times 100$$

$N_0$  = recuento inicial obtenido en la prueba de viabilidad

$N_t$  = recuento final obtenido luego de estar en contacto el microorganismo con el sanitizante a los diferentes tiempos.

Finalmente se realizaron tres repeticiones en tres días diferentes para obtener una muestra representativa.

#### 1.4.2 Susceptibilidad Microbiana

Se realizó mediante el método de difusión en agar el cual se basa en la difusión que presenta un agente antimicrobiano, impregnado en un disco de papel filtro sobre la superficie del agar. Se utilizó una suspensión de Escherichia coli ATCC 25922 equivalente a 1 del patrón Mc Farland, el cual se sembró en agar Muller Hinton, y luego de 5 minutos se colocó sobre la superficie del agar los discos impregnados con las concentraciones de los desinfectantes a ensayar (Clorox y Kalipto). Para la lectura se midieron las zonas de inhibición alrededor del disco.

## CAPÍTULO II

### RESULTADOS

#### 2.1 Diagnóstico Situacional

Para efectos de este estudio se elaboró una lista de verificación con la cual se realizó el diagnóstico inicial del establecimiento, personal, alimentos encontrándose las falencias respectivas en cada establecimiento.

Como resultado todas las picanterías presentaron no conformidades en:

- Infraestructura: se evidenció que el mayor problema es que no cuentan con la infraestructura necesaria especialmente en el área de preparación de los alimentos.
- Elaboración: se evidenció tablas de picar y cuchillos de madera, mesones de preparación de los alimentos en mal estado de conservación, y en ningún establecimiento se realiza desinfección de utensilios.
- Almacenamiento: Los alimentos en general no se almacenan debidamente, los productos de limpieza se encuentran ubicados junto a los alimentos.
- Personal: no utiliza la vestimenta adecuada para realizar las labores, no cumplen con normas de higiene, no realizan un aseo adecuado de manos.

#### 2.2 Promedio de Microorganismos en Superficies inertes analizadas de las picanterías.

Luego del análisis de los resultados de laboratorio, se muestra como resultado de la calidad microbiológica el Promedio del recuento total de UFC de coliformes totales y Escherichia coli en las distintas superficies inertes analizadas de los 5 expendios de comida.

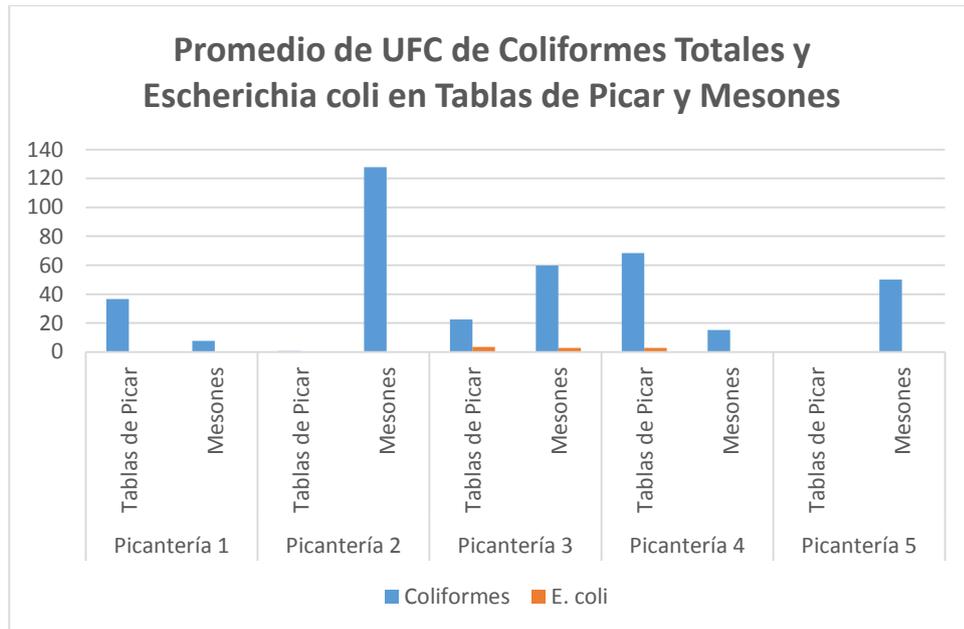


Figura 1. Promedio del recuento total (UFC) para Coliformes totales y Escherichia coli en tablas de picar y mesones de los cinco expendios de comida.

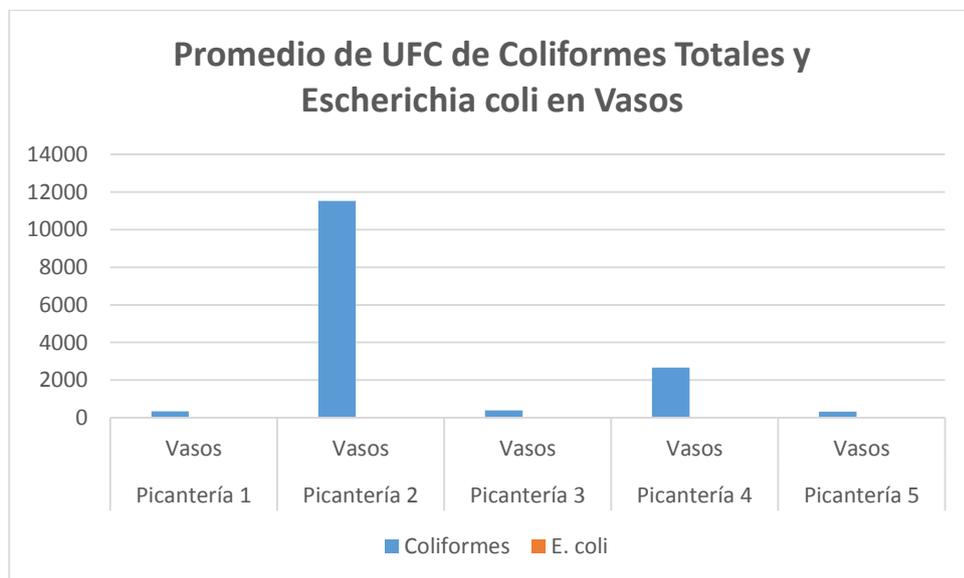


Figura 2. Promedio del recuento total (UFC) para Coliformes totales y Escherichia coli en vasos de los cinco expendios de comida.

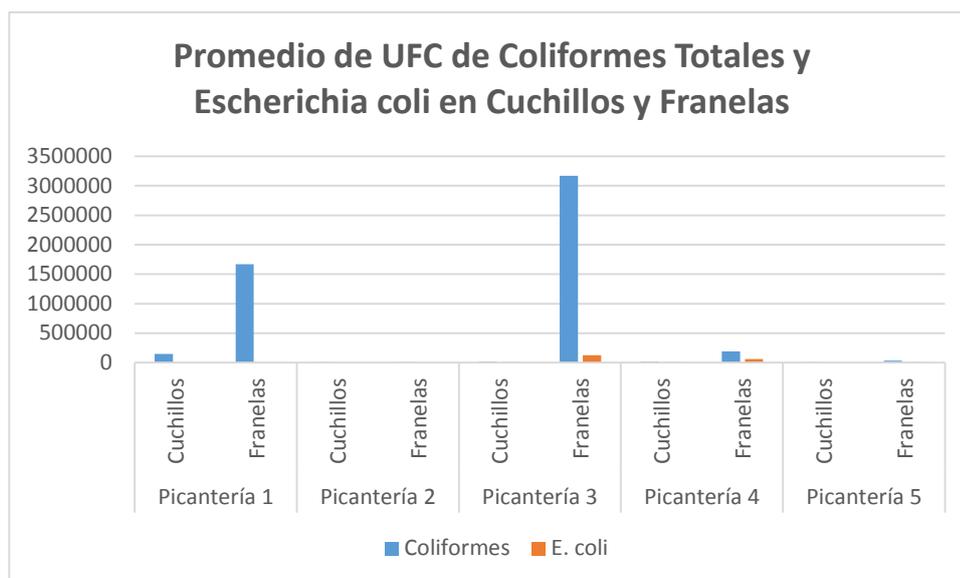


Figura 3. Promedio del recuento total (UFC) para Coliformes totales y Escherichia coli en Cuchillos y Franelas de los cinco expendios de comida.

### 2.3 Comparación de los niveles de Coliformes totales y Escherichia coli con la Norma Peruana

De las superficies inertes estudiadas se evaluó los niveles de UFC de Coliformes totales y Escherichia coli de cada uno de los expendios de comida y se las comparó con la Norma Peruana.

Tabla 2. Niveles de UFC de Coliformes totales y Escherichia coli en Superficies inertes Regulares frente a valores permisibles de la Norma Peruana.

SUPERFICIES REGULARES	Tablas de Picar		Mesones	
	Coliformes Totales (UFC)	Escherichia coli (UFC)	Coliformes Totales (UFC)	Escherichia coli (UFC)
Picantería 1	36,5	0	7,75	0
Picantería 2	0,5	0	127,75	0
Picantería 3	22,5	3,5	59,75	2,75
Picantería 4	68,5	2,75	15,25	0
Picantería 5	0,25	0	50	0
<b>Norma Peruana 461 - MINSA</b>	< 1 UFC/cm <sup>2</sup>	Ausencia/cm <sup>2</sup>	< 1 UFC/cm <sup>2</sup>	Ausencia/cm <sup>2</sup>

Tabla 3. Niveles de UFC de Coliformes totales y Escherichia coli en Superficies inertes Irregulares frente a valores permisibles de la Norma Peruana.

SUPERFICIES IRREGULARES	Vasos		Cuchillos		Fanelas	
	Coliformes Totales (UFC)	Escherichia coli (UFC)	Coliformes Totales (UFC)	Escherichia coli (UFC)	Coliformes Totales (UFC)	Escherichia coli (UFC)
Picantería 1	350	0	146750	0	1668750	0
Picantería 2	11525	0	1075	0	47,25	0
Picantería 3	400	0	17375	700	3168750	125000
Picantería 4	2675	0	15575	7675	188750	58125
Picantería 5	325	0	2575	0	34250	187,5
<b>Norma Peruana 461 - MINSA</b>	< 10 UFC / superficie muestreada	Ausencia/ superficie muestreada	< 10 UFC / superficie muestreada	Ausencia /superficie muestreada	< 25 UFC / superficie muestreada	Ausencia/ superficie muestreada

### 2.4 Comparación de la carga microbiana antes y después del procedimiento de limpieza y/o desinfección

Recuentos microbianos realizados in vivo de las Superficies inertes en cada uno de los expendios de comida, antes y 15 minutos después del procedimiento de Limpieza y/o Desinfección se muestran a continuación:

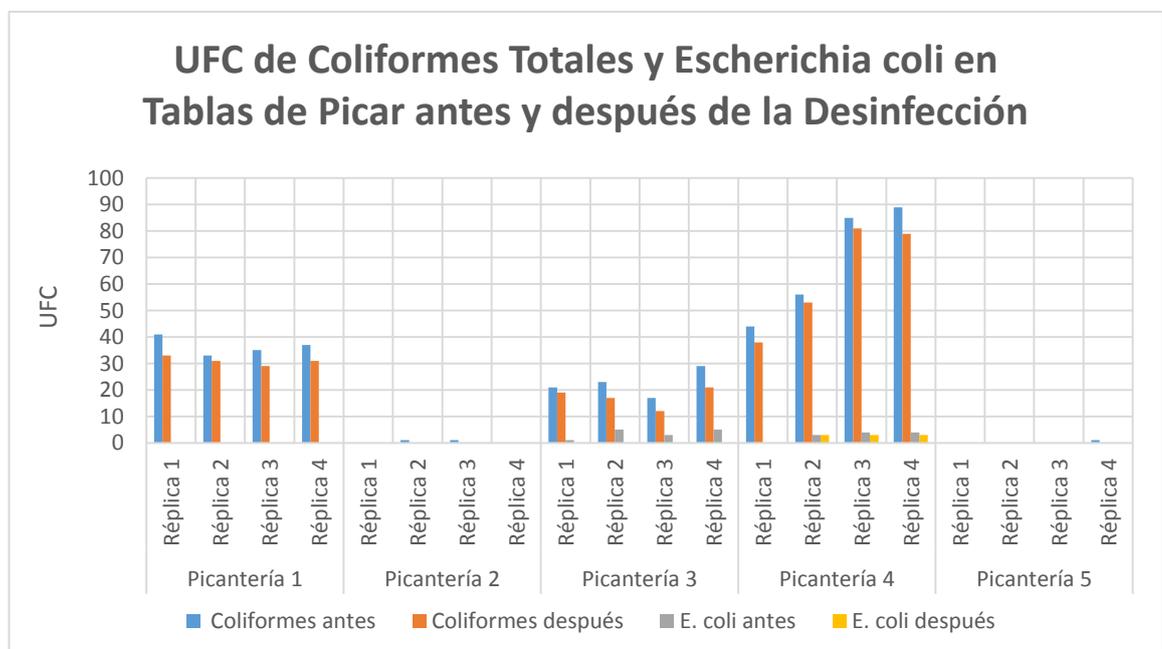


Figura 4. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Tablas de Picar antes y después de la desinfección

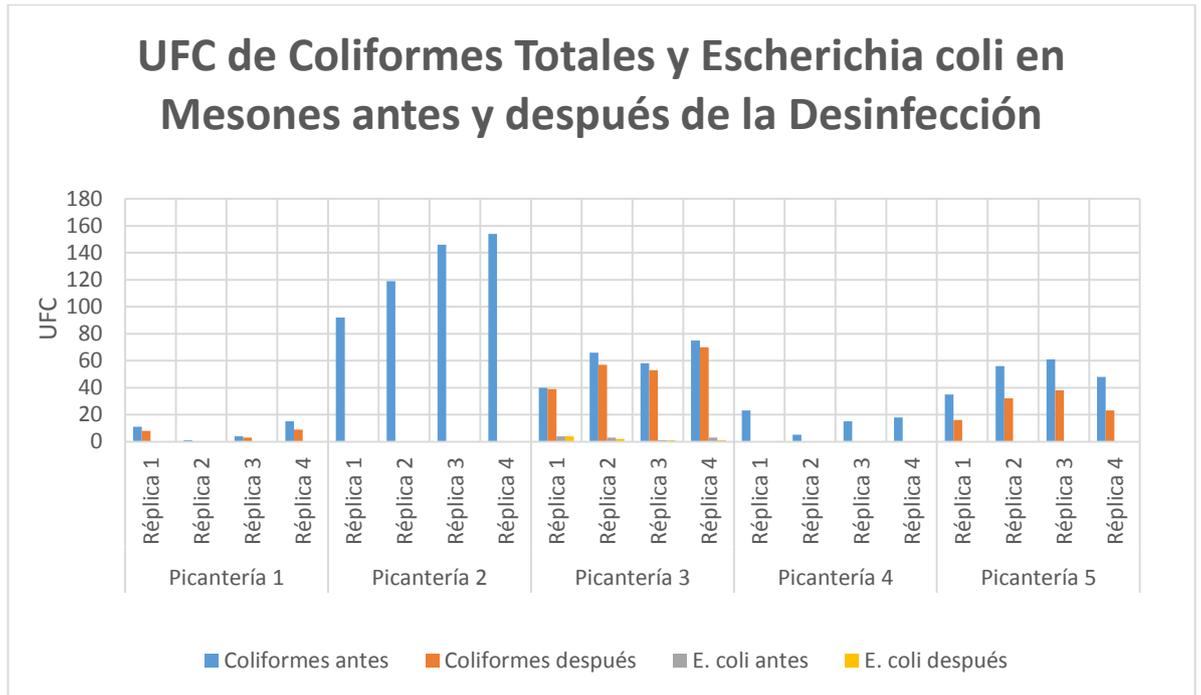


Figura 5. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Mesones antes y después de la desinfección

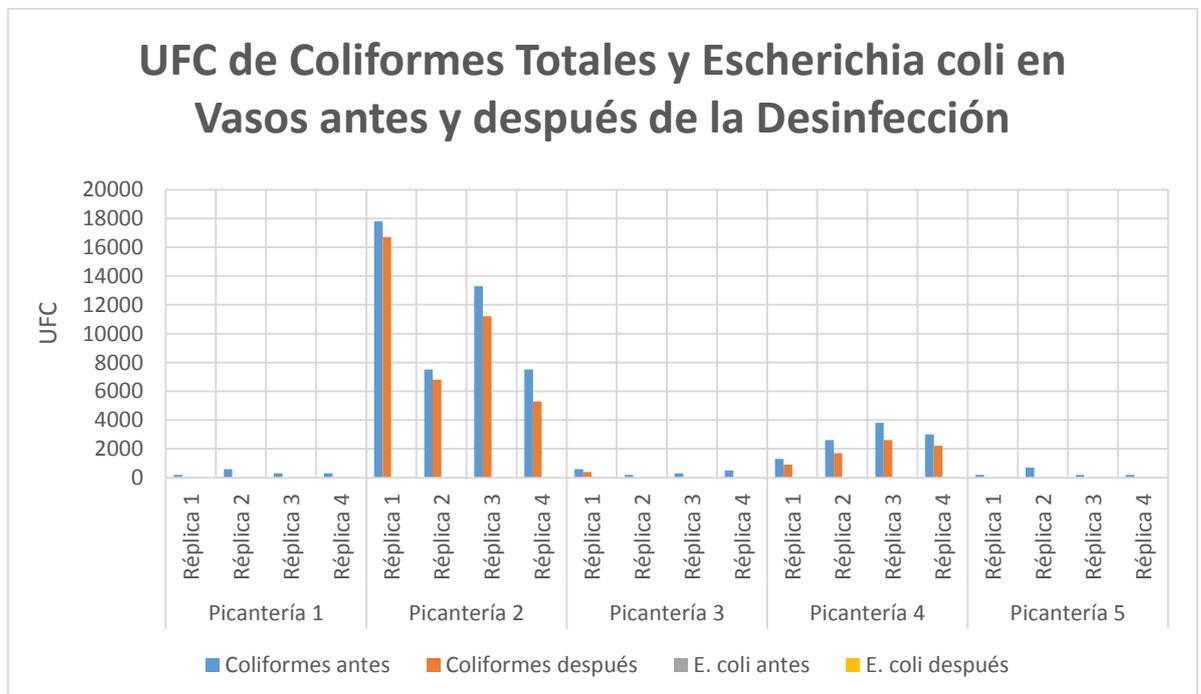


Figura 6. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Vasos antes y después de la desinfección

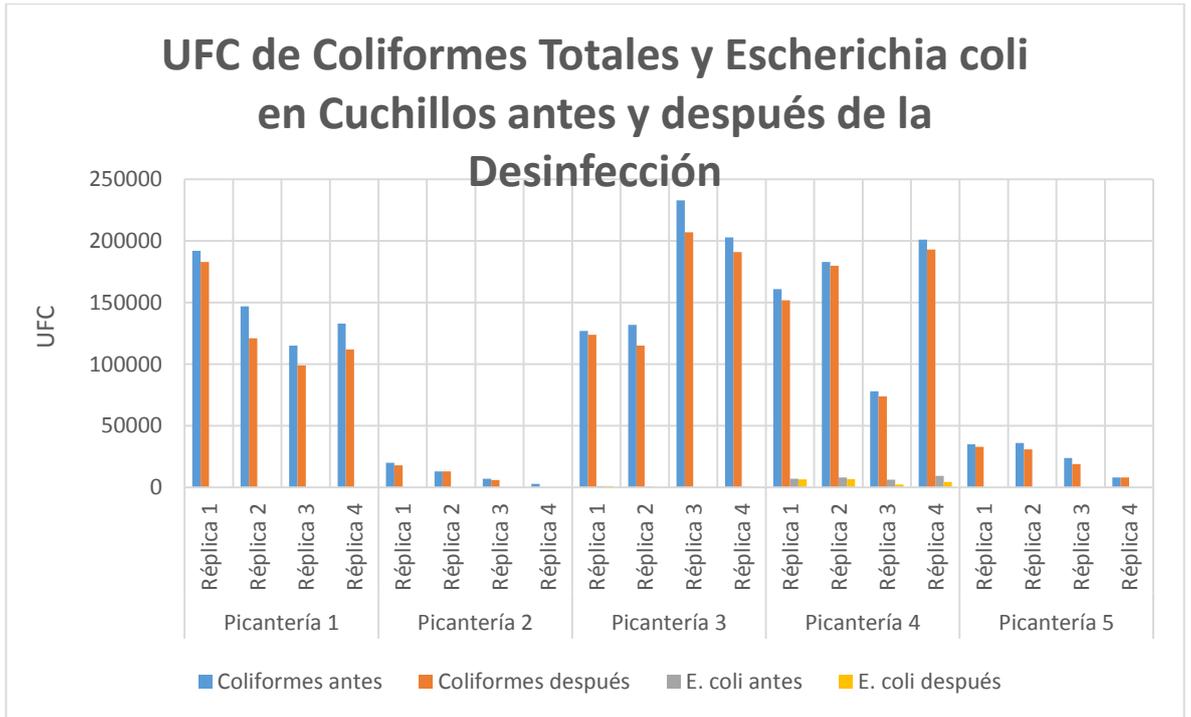


Figura 7. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Cuchillos antes y después de la desinfección

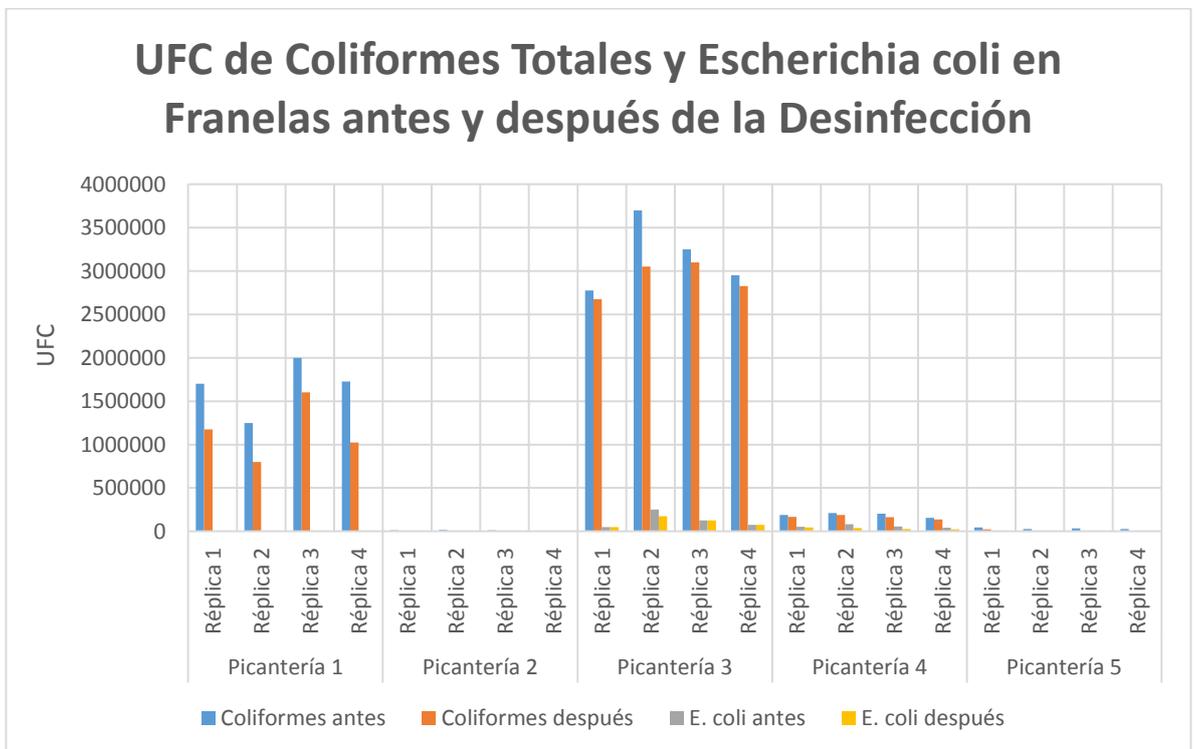


Figura 8. Comparación de los niveles de UFC de Coliformes Totales y Escherichia coli en Franelas antes y después de la desinfección

### 2.5 Eficiencia Germicida Porcentual de los Desinfectantes in vitro.

Se realizó estudios de validación de los agentes desinfectantes utilizados por dichas Picanterías únicamente para la desinfección de mesones y franelas. Estos desinfectantes son Clorox y Kalipto, los mismos que fueron probados frente a la cepa de Escherichia coli ATCC 25922 con una carga inicial de  $3 \times 10^8$  UFC/mL.

Los desinfectantes se probaron a la concentración indicada por el fabricante, a la mitad de la concentración y a la concentración utilizada por los establecimientos a los 5, 10 y 15 minutos y se realizaron 3 réplicas en tres días diferentes.

A continuación se detallan los resultados de la eficiencia de los desinfectantes.

Tabla 4. Eficiencia Germicida Porcentual del desinfectante Clorox in vitro.

CLOROX																
REPLICAS	CONCENTRACIÓN FABRICANTE				CONCENTRACIÓN DOBLE				CONCENTRACIÓN MITAD				CONCENTRACIÓN UTILIZADA			
	270mL/4litros = 67.5mL/1litro				135mL/1litro				33.75mL/litro				10mL/1litro			
	Nt				Nt				Nt				Nt			
	No	5	10	15	No	5	10	15	No	5	10	15	No	5	10	15
1	148	0	0	0	148	0	0	0	148	33	0	0	148	53	0	0
2	146	0	0	0	146	0	0	0	146	27	0	0	146	49	0	0
3	151	0	0	0	151	0	0	0	151	35	0	0	151	61	0	0
<b>PROMEDIO</b>	148,333 3	0	0	0	148,33	0	0	0	148,33	31,67	0	0	148,33	54,33	0	0
<b>UFC/mL</b>	1,48E+08	0	0	0	1E+08	0	0	0	1E+08	3E+07	0	0	1E+08	5E+07	0	0
<b>EFICIENCIA GERMICIDA PORCENTUAL</b>		100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %		79%	100 %	100 %		63%	100 %	100 %	

Tabla 5. Eficiencia Germicida Porcentual del desinfectante Kalipto in vitro.

KALIPTO												
REPLICAS	CONCENTRACIÓN FABRICANTE				CONCENTRACIÓN MITAD				CONCENTRACIÓN UTILIZADA			
	Puro				200mL/200mL				100mL/1litro			
		Nt				Nt				Nt		
	No	5	10	15	No	5	10	15	No	5	10	15
1	148	0	0	0	148	43	0	0	148	111	87	52
2	146	0	0	0	146	35	0	0	146	98	65	37
3	151	0	0	0	151	47	0	0	151	109	77	41
<b>PROMEDIO</b>	148,3	0	0	0	148,3	41,67	0	0	148,33	106	76,33	43,33
<b>UFC/mL</b>	1E+08	0	0	0	1E+08	4,2E+07	0	0	1E+08	1E+08	8E+07	4E+07
<b>EFICIENCIA GERMICIDA PORCENTUAL</b>		100%	100%	100%		72%	100%	100%		29%	49%	71%

## 2.6 Eficiencia Germicida Porcentual de los Desinfectantes in vivo.

Para evaluar la eficiencia germicida porcentual de los desinfectantes in vivo se tomaron los recuentos microbiológicos obtenidos antes y 15 minutos después (tiempo habitual que los establecimientos dejan actuar al desinfectante) de realizar la desinfección de mesones y franelas de las Picanterías 1, 2, 4 y 5, a excepción de la Picantería 3 puesto que esta no realiza ningún tipo de desinfección en las superficies estudiadas.

- Se realizaron los recuentos microbianos antes de la aplicación de los compuestos desinfectantes, los cuales nos indican una concentración microbiana menor de la que se utilizaron en las pruebas in vitro.
- Al aplicar las soluciones desinfectantes a las concentraciones utilizadas por los establecimientos se observa que con el desinfectante Kalipto a los 15 minutos de haber actuado no se evidencian cambios significativos en el recuento microbiano, mientras que con el Clorox a los 15 minutos se observa ausencia del crecimiento microbiano, como se observa en las Figuras a continuación.

Desinfectante: Kalipto



Figura 9. Comparación de la Carga microbiana del Mesón antes y 15 minutos después de la desinfección con Kalipto.

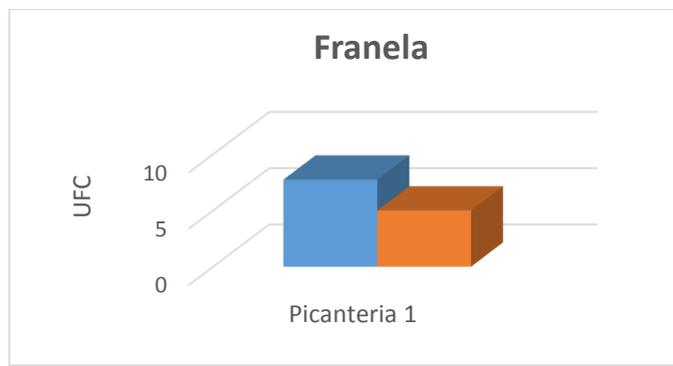


Figura 10. Comparación de la Carga microbiana de la Franela antes y 15 minutos después de la desinfección con Kalipto.

Desinfectante: Clorox

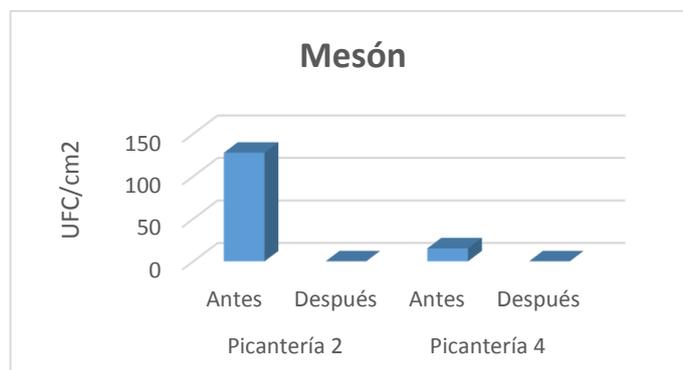


Figura 11. Comparación de la Carga microbiana del Mesón antes y 15 minutos después de la desinfección con Clorox.

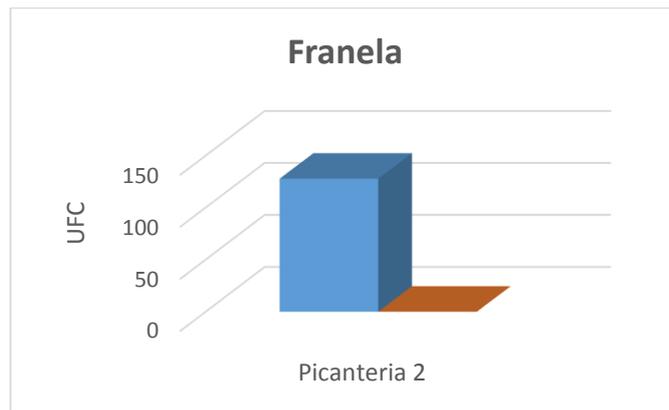


Figura 12. Comparación de la Carga microbiana de la Franela antes y 15 minutos después de la desinfección con Clorox.

A continuación se detallan los resultados de la eficiencia de los desinfectantes in vivo:

Tabla 6. Eficiencia Germicida Porcentual del desinfectante Clorox in vivo.

CLOROX 10 mL/1 litro	Picantería 2				Picantería 4	
	Mesón		Franela		Mesón	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
UFC	127,75	0	12000	0	15,25	0
Eficiencia Germicida Porcentual	100%		100%		100%	

Tabla 7. Eficiencia Germicida Porcentual del desinfectante Kalipto in vivo.

KALIPTO 100 mL/1 litro	Picantería 1				Picantería 5	
	Mesón		Franela		Mesón	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
UFC	7,75	5	1668750	1150000	50	27,25
Eficiencia Germicida Porcentual	35%		31%		46%	

## 2.7 Susceptibilidad Microbiana

Esta prueba se realizó para corroborar los resultados obtenidos con la prueba de Eficiencia germicida porcentual para cada uno de los desinfectantes frente a la cepa de Escherichia coli ATCC 25922, donde se probó la concentración del fabricante, el doble, la mitad y la

utilizada por los establecimientos, de lo cual se realizó tres réplicas, donde se evidenció los siguientes resultados:

Desinfectante: Kalipto

- La cepa de Escherichia coli ATCC 25922 es sensible a la concentración indicada por el fabricante y a la mitad de la concentración, mientras que a la concentración utilizada por los establecimientos esta cepa es resistente ya que no se evidencia ningún halo de inhibición.

Tabla 8. Resultados de la prueba de susceptibilidad microbiana de Escherichia coli ATCC 25922 frente al desinfectante Kalipto.

<b>KALIPTO</b>			
	<b>Concentración Fabricante</b>	<b>Concentración Mitad</b>	<b>Concentración Utilizada</b>
	<b>Puro</b>	<b>200mL/200mL</b>	<b>100mL/1litro</b>
<b>REPLICA 1</b>	4 mm	1,5 mm	0= Resistente
<b>REPLICA 2</b>	4 mm	1,5 mm	0= Resistente
<b>REPLICA 3</b>	4 mm	1,5 mm	0= Resistente

Desinfectante: Clorox

- La cepa de Escherichia coli ATCC 25922 es sensible a todas las concentraciones, evidenciándose los halos de inhibición.

Tabla 9. Resultados de la prueba de susceptibilidad microbiana de Escherichia coli ATCC 25922 frente al desinfectante Clorox.

<b>CLOROX</b>				
	<b>Concentración Fabricante (Puro)</b>	<b>Concentración Doble</b>	<b>Concentración Mitad</b>	<b>Concentración Utilizada</b>
	<b>270mL/4litros = 67.5mL/1litro</b>	<b>135mL/1litro</b>	<b>33.75mL/litro</b>	<b>10mL/1litro</b>
<b>REPLICA 1</b>	1 mm	2 mm	1 mm	1 mm
<b>REPLICA 2</b>	1 mm	2 mm	1 mm	1 mm
<b>REPLICA 3</b>	1 mm	2 mm	1 mm	1 mm

## 2.8 Análisis de Varianza de un factor para las variables tiempo de exposición y tipo de desinfectante.

Para este análisis se utilizan los valores promedio de los recuentos microbiológicos obtenidos al entrar en contacto el desinfectante con el microorganismo en los diferentes tiempos, durante las tres réplicas, para lo cual se plantearon las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula (Ho): la eficacia de los desinfectantes es igual en todos los tiempos evaluados a la concentración utilizada por las picanterías

Hipótesis alternativa (Ha): la eficacia de los desinfectantes no es igual en todos los tiempos evaluados a la concentración utilizada por las picanterías.

### 2.8.1 Análisis de Varianza de un factor a la concentración utilizada de los diferentes desinfectantes por las Picanterías.

Variable: Tiempo de Exposición

Tabla 10. Análisis de varianza de un factor para la variable tiempo.

Tiempo	CONCENTRACIÓN UTILIZADA		
	5 min	10 min	15 min
CLOROX (10mL/1litro)	5E+07	0	0
	5E+07	0	0
	6E+07	0	0
KALIPTO (100mL/1litro)	1E+08	8,7E+07	5,2E+07
	1E+08	6,5E+07	3,7E+07
	1E+08	7,7E+07	4,1E+07

#### RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
5 minutos	6	481000000	80166666,67	8,354E+14
10 minutos	6	229000000	38166666,67	1,797E+15
15 minutos	6	130000000	21666666,67	5,875E+14

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,0917E+16	2	5,4585E+15	5,0865068	0,020590665	3,682320344
Dentro de los grupos	1,6097E+16	15	1,07313E+15			
Total	2,7014E+16	17				

Como resultado del análisis de varianza se determinó que el valor calculado F (5,08) es mayor que el valor crítico (3,68); la probabilidad es (0,02), valor menor que 0,05, lo que indica que los resultados son significativos por consiguiente se rechaza la hipótesis nula.

Variable: Tipo de desinfectante

Tabla 11. Análisis de varianza de un factor para la variable desinfectante.

	CLOROX	KALIPTO
5 minutos	5,3E+07	1,1E+08
	4,9E+07	9,8E+07
	6,1E+07	1,1E+08
10 minutos	0	8,7E+07
	0	6,5E+07
	0	7,7E+07
15 minutos	0	5,2E+07
	0	3,7E+07
	0	4,1E+07

#### RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	9	163000000	18111111,1	7,4736E+14
Columna 2	9	677000000	75222222,2	7,9469E+14

#### ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,46776E+16	1	1,46776E+16	19,0363512	0,000482913	4,493998478
Dentro de los grupos	1,23364E+16	16	7,71028E+14			
Total	2,7014E+16	17				

Como resultado del análisis de varianza se determinó que el valor calculado F (19,03) es mayor que el valor crítico (4,49); la probabilidad es (0,00048), valor menor que 0,05, lo que indica que los resultados son significativos por consiguiente se rechaza la hipótesis nula.

## 2.9 Capacitación del Personal

Los resultados obtenidos después de realizada la capacitación a los dueños y a quienes manipulan los alimentos en estas Picanterías fueron:

- Renovación de algunos de los utensilios que se encontraban en mal estado
- Las mesas y mesones donde se preparan los alimentos se encuentran como plan de renovación a un material de fácil limpieza y desinfección.
- Uso adecuado del uniforme de trabajo
- Ejecución del procedimiento de lavado adecuado de manos
- Adecuación de dispensadores de jabón líquido y desinfectante para un correcto aseo de manos.
- Uso de franelas exclusivo para la limpieza de mesones y lavado de utensilios.
- Lavado adecuado de utensilios
- Implementación de desinfección de utensilios con el desinfectante recomendado.

Posterior a la capacitación brindada al personal se procedió a realizar un muestreo de las superficies de estudio para de esta manera comprobar si el procedimiento de limpieza y desinfección se está realizando de manera adecuada.

Los resultados fueron positivos debido a que los utensilios habían sido renovados y los procedimientos de limpieza y desinfección se realizaban de manera adecuada, encontrándonos de esta manera con cargas microbiológicas nulas luego de la desinfección.

## CAPÍTULO III

### DISCUSIÓN

De acuerdo al diagnóstico situacional todas las picanterías presentaron falencias en cuanto a infraestructura, almacenamiento de productos, manipulación de los alimentos, prácticas de higiene del personal y utensilios en mal estado y no adecuados para la preparación de los alimentos, siendo esto motivo de una posible contaminación microbiana.

Los resultados obtenidos de los niveles de UFC de Coliformes totales y *Escherichia coli* en las diferentes superficies inertes estudiadas demuestran que todas las Picanterías no realizan una adecuada limpieza y desinfección de las mismas siendo la Picantería 1 la que presenta los porcentajes más altos de Coliformes totales en cuchillos: 80%, Picantería 2: vasos 75% y mesones 49%, Picantería 3: franelas: 62%, Picantería 4: Tablas de picar: 53%; y en cuanto a los niveles de *Escherichia coli* tenemos que: la picantería 3: tablas de picar 56% y franelas 68%, Picantería 4: cuchillos 92%.

Los resultados concuerdan con un estudio realizado donde se demostró la capacidad, entre moderada y fuerte de Coliformes totales y termotolerantes para la producción de biopelículas. Del total de aislados de Coliformes totales, el 50,0 % se distinguió como moderadamente formador de biopelículas y un 29,2 % demostró una fuerte capacidad hacia el agregado en matriz polimérica. En cuanto al grupo termotolerante, un 65,5 % de las especies fueron catalogadas como moderadamente formadoras, mientras que el 10,3 % presentó tendencia a originar una adherencia fuerte a la superficie. Este hallazgo resulta importante ya que demuestra que una inadecuada limpieza y desinfección generan biopelículas lo cual se traduce a una contaminación de los alimentos por contacto con las superficies inertes.(Tomás Rojas, 2012). Lo cual quedó demostrado con nuestro estudio ya que se pudo observar la presencia de Coliformes totales y *Escherichia coli* en niveles significativos en las superficies inertes analizadas.

Al comparar los niveles de UFC de Coliformes totales de las superficies analizadas con la Norma Peruana, podemos observar que todas las superficies de todos los expendios de comida se encuentran fuera de los límites permitidos por dicha Norma, lo cual es indicativo de una limpieza y desinfección no adecuada de las superficies, mientras que los niveles de UFC de *Escherichia coli* en las Picanterías 1, 2 cumplen con la Norma Peruana debido a la ausencia del patógeno en todas las superficies inertes motivo de estudio; la picantería 3 y 4 presentan bajos niveles de *Escherichia coli* en tablas de picar, mesones, y niveles altamente significativos en cuchillos y franelas; finalmente la picantería 5 presenta este patógeno únicamente en franelas; incumpliendo las picanterías 3, 4 y 5 con la Norma Peruana..

Al comparar la carga microbiana de todas las superficies inertes de las Picanterías 1, 2, 4 y 5 antes y después de los procedimientos de limpieza y desinfección experimentan una disminución de la carga microbiana, mientras que la Picantería 3 no realiza ningún procedimiento de desinfección, evidenciándose que la carga microbiana se mantiene o disminuye mínimamente después del procedimiento de lavado.

Los establecimientos que realizan la desinfección no utilizan la dosificación establecida por el fabricante, lo que no permite reducir la carga microbiana a niveles aceptables, pudiendo apreciarse en el trabajo in vitro que:

- Los desinfectantes (Clorox y Kalipto) a dosis recomendadas cumplen el test de Chambers, observándose reducción a los 5 minutos de exposición. Viéndose que la eficiencia de los desinfectantes usados en dosis recomendadas por el fabricante son efectivas ya que reducen el 99.99%.
- El Clorox al aplicar al doble de la concentración, se obtiene de igual manera esta reducción a los 5 minutos de exposición, mientras que con el Kalipto no se pudo trabajar con esta concentración puesto que el compuesto era puro y no expresaba su concentración.
- Los desinfectantes (Clorox y Kalipto) a la mitad de la concentración se observó que cumplen con la condición del test de Chambers a los 10 minutos.
- En lo que respecta al Kalipto a la concentración utilizada por las Picanterías (100mL/1litro), no cumple con esta condición en ninguno de los tiempos analizados.
- En lo que respecta al Clorox a la concentración utilizada por las Picanterías (10 mL/1 litro), se da dicha reducción a los 10 minutos de exposición.

La Eficiencia Germicida Porcentual de los Sanitizantes Clorox y Kalipto mediante los ensayos in vivo se determinó lo siguiente:

- El desinfectante Clorox a la concentración utilizada por las Picanterías (10 mL /1 litro), a los 15 minutos elimina el 100% de los microorganismos presentes en las superficies de contacto estudiadas (mesones y franelas), por lo que este desinfectante es estable a factores como pH, humedad, etc.
- El desinfectante Kalipto a la concentración utilizada por las Picanterías (100 mL /1 litro), a los 15 minutos no cumple con el porcentaje puesto que reduce la carga microbiana a 35%, 31% y 46% respectivamente.
- Los resultados concuerdan con la bibliografía explicada en la tabla 1 la cual indica que los desinfectantes clorados presentan muy buena actividad frente a las bacterias Gram negativas, mientras que los compuestos de Amonio cuaternario presentan buena actividad.

Mediante los ensayos de Susceptibilidad Microbiana se determinó lo siguiente:

- El desinfectante Clorox a todas las concentraciones probadas es efectivo, incluso a la concentración utilizada por los expendios de comida (10 mL/1litro) ya que la cepa de Escherichia coli ATCC 25922 es sensible a esta concentración presentando un halo de inhibición de 1 mm. Estos resultados concuerdan con la bibliografía explicada en la introducción la cual indica que los compuestos que liberan cloro, son sensibles tanto para las bacterias Gram positivas como para las Gram negativas.(Marriot N, 2003)
- El desinfectante Kalipto es efectivo a las concentración indica por el fabricante y a la mitad de la concentración, sin embargo a la concentración utilizada por los expendios de comida (100 mL/1 litro) no es efectivo ya que la cepa de Escherichia coli ATCC 25922 es resistente a esta concentración ya que no presenta halo de inhibición, lo cual puede deberse a la baja concentración y a que estos son afectados de manera mínima por la presencia de materia orgánica, y debido a que los amonios cuaternarios son menos eficaces frente a Gram negativas según lo indica un estudio realizado por la Secretaría Distrital de Salud de Bogotá, 2011 .

Al realizar el análisis de varianza de un factor, con un nivel de confianza del 95% y con un nivel de significancia de 0,05 se considera:

- Variable: Tiempo de exposición: se rechazó la hipótesis nula por lo que sí existe diferencia entre las medias del recuento microbiano para cada tiempo, concluyendo que la destrucción bacteriana se incrementa a medida que aumenta el tiempo de exposición.
- Variable: tipo de desinfectante: se rechazó la hipótesis nula por lo que sí existe diferencia entre las medias del recuento microbiano para cada desinfectante, lo que indica que cada desinfectante reduce la carga microbiana de manera distinta.

Los resultados obtenidos al comprobar los procedimientos de limpieza y desinfección fueron cargas microbiológicas nulas, debiéndose esto a la capacitación y al involucramiento de los dueños de los expendios de comida por mejorar sus condiciones.

## CONCLUSIONES

1. Para todas las superficies inertes los niveles de Coliformes totales, estuvieron por encima de la Norma Peruana.
2. Los niveles de Escherichia coli en vasos de todas las picanterías estuvieron de acuerdo a la norma, es decir ausencia.
3. Las superficies en las que prevalece Escherichia coli son: tablas de picar, cuchillos y franelas de las picanterías 3 y 4.
4. Las picanterías 1, 2 cumplen con la norma en cuanto a los niveles de Escherichia coli en todas las superficies inertes muestreadas.
5. La picantería con mejor calidad microbiológica según esta investigación es la picantería # 2, puesto que existe ausencia de Escherichia coli y los niveles de Coliformes totales son menores a los encontrados en las otras picanterías.
6. Después de los procedimientos de limpieza y desinfección la carga microbiana de todas las superficies inertes de los expendios de comida experimentan una disminución.
7. Se determinó la Eficiencia Germicida Porcentual de los sanitizantes Kalipto y Clorox mediante ensayos cuantitativos in vitro e in vivo, siendo:
8. Al comparar la Eficiencia Germicida Porcentual de los desinfectantes a la concentración utilizada por las Picanterías, se observó que en ningún caso se cumple con lo estipulado en el test de Chambers.

Esto puede deberse a que los compuestos utilizados en este estudio son mezclas y no son puros, además que en el caso del desinfectante Kalipto que es un amonio cuaternario tiene una actividad detergente lo que hace que sea efectivo en mayor tiempo. Sin embargo los resultados muestran que el desinfectante Clorox es efectivo a todas las concentraciones, a diferencia del Kalipto que a la concentración utilizada por los establecimientos no es efectivo en ninguno de los tiempos valorados.

9. De los resultados del análisis de varianza de un factor se concluye: que al analizar la variable tiempo y tipo de desinfectante en todas las concentraciones se rechaza la hipótesis nula, donde a medida que aumenta el tiempo de exposición se

incrementa la inhibición bacteriana y que con el desinfectante Clorox existe mayor inhibición.

10. Con los desinfectantes usados a las concentraciones recomendadas por el fabricante aseguramos el cumplimiento de la Norma Peruana (Guía Técnica Peruana, para el análisis microbiológico de superficies en contacto con los alimentos y bebidas).
11. Durante la capacitación se realizó recomendaciones a los dueños de los establecimientos, quienes optaron por realizar cambios para la mejora de sus establecimientos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguayo Quisiguiña Paola Stefanía, G. G. (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. Guayaquil, Guayas, Ecuador.
- Arzú, O. R.-P.-R.-R. (s/f). Evaluación de riesgo microbiológico en superficies inertes y vivas de Manipuladores en áreas de Producción de un Supermercado del Nordeste Argentino. Argentina. Recuperado el 23 de Mayo de 2015, de <http://www.unne.edu.ar/unnevieja/Web/cyt/cyt/2002/04-Veterinarias/V-063.pdf>
- Astrid Carolina Flórez, C. R. (Diciembre de 2008). Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia, 2007. *Infect*, 12(4), 255 - 266. Obtenido de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012393922008000400004&script=sci\\_art\\_ext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012393922008000400004&script=sci_art_ext)
- Betelgeux. (28 de 05 de 2015). *DESINFECTANTES UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA*. Obtenido de [http://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Articulo\\_boletin\\_Desinfectantes\\_y\\_Modo\\_de\\_accion\\_en\\_IIAA.pdf](http://www.betelgeux.es/images/files/Documentos/Articulo_boletin_Desinfectantes_y_Modo_de_accion_en_IIAA.pdf)
- Bouix M. Leveau, a. J. (2002). Importancia de los fenómenos microbianos en los procesos alimentarios y biológicos. En *Manual Técnico de Higiene, Limpieza y Desinfección* (págs. 119-176). Madrid: A. Madrid Vicente and Mundi-Prensa.
- Calle Armijos, M. N. (2010). COMPROBACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL SISTEMA DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN PRE-OPERACIONAL EN LAS SUPERFICIES INERTES EN LA. Cuenca, Azuay, Ecuador.
- Cobeña Toala Diana Alejandra, M. T. (2012). Desarrollo e Implementacion de un programa de Inocuidad Aplicado a Servicios de Alimentación Colectiva en la Provincia de Santa Elena Comuna Ayangue. Santa Elena, Ecuador. Recuperado el 18 de Abril de 2015, de <https://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/20978>
- Congreso Nacional del Ecuador. (14 de Diciembre de 2006). LEY ORGÁNICA DE SALUD (Ley N° 2006 - 67). *LEY ORGÁNICA DE SALUD (Ley N° 2006 - 67)*. San Francisco de Quito, Pichincha, Ecuador: Ediciones Legales.

Desinfectantes utilizados en la Industria Alimentaria. (s.f.). Betelgeux. Obtenido de:  
[http://www.msp.gob.ec/dps/cotopaxi/index.php?option=com\\_content&view=article&id=13&Itemid=44](http://www.msp.gob.ec/dps/cotopaxi/index.php?option=com_content&view=article&id=13&Itemid=44)

Dirección General de Salud Ambiental. (05 de 06 de 2007). Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA: Guía Técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y Bebidas. Lima, Perú.

Elizabeth, M. M. (2013). "Mejoramiento del Ambiente de Elaboración de Alimentos en un Servicio de Catering a Través de la Aplicación de Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento (POES)". Guayaquil, Guayas, Ecuador.

GALLARDO TRONCOSO, M. D. (2006). "Acción antimicrobiana de un desinfectante de uso industrial y doméstico sobre. Santiago, Chile.

García, A. (1989). Programa de Limpieza e Higiene.

Graciela D. Ávila Quezada, C. I. (julio-septiembre de 2009). CONTAMINACIÓN FÍSICA Y MICROBIOLÓGICA DEL CHILE "CHIPOTLE" DURANTE EL DESHIDRATADO. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 32(3), 225 - 231. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61011739007>

Hernández San Juan, S. Z. (Abril - Junio de 2007). Condiciones microbiológicas en el proceso de sacrificio en un rastro municipal del estado de Hidalgo. *Veterinaria México*, 38(2), 187 - 195. Recuperado el 7 de Mayo de 2015, de <http://www.redalyc.org/comocitar.oa?id=42338205>

Holah, J. (1995). Desinfectant Test Methods for food hygiene, institutional, industrial, and domestic applications.

Instituto Ecuatoriano de Normalización - INEN. (1999). NTE INEN 1529-2: 99: CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS TOMA, ENVÍO Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO. Quito, Ecuador.

Ma. Carme Martí Solé, R. M. (1999). Desinfectantes: características y usos mas corrientes. España.

Marriot N. (2003). *Principios de Higiene Alimentaria*. España: Acribia S.A Zaragoza.

McDonell, G. y. (1999). Antisépticos y Desinfectantes. *Clinical Microbiology Reviews*, 147.

Ministerio de Salud Pública. (2012). *Vigilancia Epidemiológica*. Cuenca. Obtenido de [http://www.msp.gob.ec/dps/cotopaxi/index\\_php?](http://www.msp.gob.ec/dps/cotopaxi/index_php?)

Mudarra Darinel, R. Y. (Abril de 2011). Determinación de Calidad Microbiológica de muestras obtenidas en superficies vivas e inertes de 3 Expendios de Comida en Chitré. Chitré, Panamá.

Muñoz Duran Mario, V. A. (2004). CALIDAD SANITARIA DE ALIMENTOS EN CINCO COMEDORES DE LA COMARCA LAGUNERA. *Revista Chapingo*, 131 - 136.

Orquera Tello Ana Cristina, S. C. (2012). *Prevalencia de las Enfermedades transmitidas por alimentos en la Ciudad de Cuenca en los años 2009 al 2011*. Cuenca.

Quispe, J. J., & ., V. S. (2001). Evaluación Microbiológica y Sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima - Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 18(1-2), 27 -32. Obtenido de:[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172646342001000100007&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S172646342001000100007&script=sci_arttext)

Secretaría Distrital de Salud de Bogotá. (2011). *LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN DE EQUIPOS Y SUPERFICIES AMBIENTALES EN INSTITUCIONES PRESTADORAS DE SERVICIOS DE SALUD*. Bogotá. Recuperado el 12 de Octubre de 2015

Serrano Añazco, M. I. (Octubre de 2011). Elaboración e Implementación de un Sistema de Gestión de Inocuidad Alimentaria para los productos cárnicos comercializados por PRODUSHALOM CIA. LTDA. Sangolquí, Pichincha, Ecuador.

Tomás Rojas, A. M. (2012). Formación de biopelículas y susceptibilidad antimicrobiana entre coliformes aislados en agua potable embotellada en Carabobo. 52(1), 87-97. Obtenido de [http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-46482012000100008](http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482012000100008)

Valls, N. F. (Diciembre de 2006). Recuperado el 3 de Noviembre de 2015, Obtenido de <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5683/nfv1de1.pdf?sequence=1>

## ANEXOS

*Anexo 1. Lista de verificación para el diagnóstico inicial de los expendios de comida.*

**LISTA DE VERIFICACIÓN DE CONDICIONES HIGIÉNICO SANITARIAS DE LAS PICANTERÍAS  
MOTIVO DE ESTUDIO**

INFORMACIÓN DEL ESTABLECIMIENTO	
NOMBRE DEL ESTABLECIMIENTO:	
DIRECCIÓN:	
TELÉFONO:	
CORREO ELECTRÓNICO:	
NOMBRE DEL PROPIETARIO:	
N° CC/PASAPORTE:	

CONDICIONES HIGIÉNICO SANITARIAS			
	CUMPLE	NO CUMPLE	NO APLICA
<b>INFRAESTRUCTURA</b>			
¿El establecimiento se encuentra alejado de focos de insalubridad?			
¿El área de preparación de los alimentos cuenta con una infraestructura que permita fácil limpieza y desinfección?			
¿Las paredes, pisos, techos y ventanas del establecimiento se encuentran limpios y en buen estado de conservación?			
¿El área de expendio de los servicios se encuentra limpia y en buen estado?			
¿Las áreas de almacenamiento cuentan con control de temperatura y/o humedad de acuerdo a las necesidades propias de conservación de cada tipo de alimento?			
¿El establecimiento cuenta con adecuada ventilación?			
¿Dispone de suministro de agua potable?			
¿Las baterías sanitarias se encuentran en buen estado de limpieza y mantenimiento?			
¿Las baterías sanitarias se encuentran separadas del área de elaboración de los alimentos?			
¿Cuenta con recipientes identificados para la recolección de acuerdo al tipo de desechos?			
¿Cuenta con sistema de alcantarillado o desagüe?			
¿El establecimiento está protegido para evitar el ingreso de roedores e insectos?			
<b>PLAGAS</b>			
¿Se encuentran indicios o presencia de roedores, insectos y otras plagas?			
¿El establecimiento cuenta con programas de prevención y eliminación de plagas?			
<b>PERSONAL</b>			
¿Los trabajadores cuentan con indumentaria limpia y apropiada para realizar sus labores diarias?			
¿El personal trabaja bajo prácticas higiénicas para la manipulación en los procesos de producción?			
¿El personal recibe capacitación en Buenas Prácticas de Higiene para la manipulación de alimentos?			
<b>MATERIALES Y EQUIPOS</b>			



Anexo 2. Fotografías de superficies inertes de las Picanterías al inicio del estudio.

Tablas de Picar



Cuchillos



Vasos



Mesones de trabajo



*Anexo 3. Fotografías de superficies inertes de las Picanterías al final del estudio.*



*Anexo 4. Uso adecuado de vestimenta por el personal manipulador de alimentos*

