

# UCUENCA

## Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Bioquímica y Farmacia

**Control microbiológico de superficies inertes en locales de alimentos preparados ubicados en el mercado 27 de febrero, Cuenca, Ecuador**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico


**Autores:**

Nixon Eduardo Pacheco Portilla

José Luis Ureña Ludeña

**Directora:**

Jessica Andrea León Vizñay

**ORCID:**  0000-0003-49131717

**Cuenca, Ecuador**

2023-11-07

## Resumen

Las enfermedades transmitidas por alimentos pueden ser generadas por el consumo de alimentos tras el contacto con superficies vivas e inertes contaminadas, constituyendo uno de los principales mecanismos en el que un alimento se vuelve nocivo para la salud del consumidor. El presente estudio tiene como objetivo realizar el control microbiológico de superficies inertes (tabla de picar, cuchillo, plato, olla y pozuelo) y superficies vivas (manos) en el Mercado 27 de febrero, ubicado en la ciudad de Cuenca, Ecuador. Para este fin, se realizó un estudio descriptivo y transversal donde se recolectaron muestras de los locales que preparan y expenden comida. Las muestras de superficies inertes fueron tomadas por el método del hisopo, mientras que para las muestras de superficies vivas se empleó el método del enjuague y los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Universidad de Cuenca. Determinadas muestras de superficies inertes mostraron valores superiores al límite permitido para coliformes totales según la Normativa Peruana Resolución Ministerial N°461-2007 MINSA, sin embargo, no se determinó crecimiento de *Escherichia coli* en ninguna superficie inerte, obteniéndose la totalidad del cumplimiento (100%) para la norma sanitaria. Para el caso de superficies vivas, los resultados presentaron un cumplimiento total de la reglamentación tanto para coliformes totales, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

*Palabras clave:* contaminación alimentaria, superficies de contacto, inocuidad alimentaria



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

### Abstract

Foodborne diseases can be generated by the consumption of food after contact with contaminated live and inert surfaces, constituting one of the main mechanisms in which a food becomes harmful to the consumer's health. The objective of the present study was to carry out the microbiological control of inert surfaces (chopping board, knife, plate, pot and well) and live surfaces (hands) in the 27 February Market, located in the city of Cuenca, Ecuador. For this purpose, a descriptive and cross-sectional study was carried out where samples were collected from the premises that prepare and sell food. Samples of inert surfaces were taken by the swab method, while for samples of live surfaces the rinse method was used and the analyses were carried out at the Food Microbiology laboratory of the University of Cuenca. Certain samples of inert surfaces showed values above the permitted limit for total coliforms according to Peruvian Ministerial Resolution N°461-2007 MINSA, however, no *Escherichia coli* growth was determined on any inert surface, resulting in full compliance (100%) with the sanitary standard. In the case of live surfaces, the results showed total compliance with the regulation for total coliforms, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

*Keywords:* food contamination, contact surfaces, food safety



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

## Índice de contenido

Introducción.....	15
Objetivo General.....	17
Objetivos Específicos .....	17
Hipótesis: .....	17
1. Marco teórico .....	18
1.1 Inocuidad alimentaria.....	18
1.2 Enfermedades transmitidas por alimentos.....	18
1.2.1 Manifestaciones de enfermedades transmitidas por alimentos.....	18
1.3 Tipos de enfermedades transmitidas por alimentos .....	19
1.3.1 Infección .....	19
1.3.2 Intoxicación.....	19
1.3.3 Toxiinfección .....	19
1.4 Formas de contaminación alimentaria.....	19
1.5. Buenas prácticas de manufactura en la prevención de ETA.....	22
1.6 Microorganismos indicadores de la calidad de superficies inertes y vivas .....	23
1.6.1 Coliformes totales.....	23
1.6.2 <i>Escherichia coli</i> .....	23
1.6.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	24
2. Metodología .....	24
2.1 Tipo de estudio.....	25
2.2 Área de estudio .....	25
2.3 Muestreo y tamaño de la muestra .....	25
2.4 Materiales, equipos y reactivos .....	26
Materiales .....	26
Equipos.....	26
Reactivos.....	26
2.5 Métodos y técnicas de análisis .....	26
2.5.1 Método del hisopo para superficies inertes .....	26
2.5.2 Método del enjuague para superficies vivas .....	28
2.6 Recuento microbiológico mediante placas petrifilm .....	28
2.6.1 Coliformes totales / <i>Escherichia coli</i> .....	29
2.6.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	30
2.7 Cálculos.....	31
2.7.1 Superficies inertes.....	31

2.7.2 Superficies vivas .....	32
2.8 Análisis estadístico.....	32
3. Resultados y discusión .....	33
3.1 Análisis microbiológico de superficies inertes .....	33
3.1.1 Coliformes totales.....	33
3.1.2 <i>Escherichia coli</i> .....	37
3.2 Análisis microbiológico de superficies vivas.....	39
3.2.1 Coliformes totales / <i>Escherichia coli</i> .....	39
3.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
4. Conclusiones y recomendaciones.....	42
4.1 Conclusiones .....	42
4.2 Recomendaciones.....	42
5. Referencias.....	43
6. Anexos .....	49

## Índice de figuras

Figura 1. Límites microbiológicos para superficies vivas por el método del enjuague.....	17
Figura 2. Límites microbiológicos para superficies inertes por método del hisopo.....	17
Figura 3. Proceso de muestreo por el método del hisopo.....	23
Figura 4. Proceso de muestreo por el método del enjuague.....	24
Figura 5. Determinación de coliformes totales / Escherichia coli en superficies inertes mediante placas Petrifilm.....	25
Figura 6. Determinación de Staphylococcus aureus en superficies vivas mediante placas Petrifilm.....	26
Figura 7. Porcentaje de cumplimiento e incumplimiento en base a la normativa MINSA de coliformes totales para superficies inertes.....	29

## Índice de tablas

Tabla 1. Análisis estadístico de microorganismos indicadores de calidad para superficies inertes: coliformes totales.....	29
Tabla 2. Análisis estadístico de microorganismos indicadores de calidad para superficies inertes: E. coli.....	33
Tabla 3. Análisis estadístico de microorganismos indicadores de calidad para superficies vivas: coliformes totales / E. coli.....	34
Tabla 4. Análisis estadístico de microorganismos indicadores de calidad para superficies vivas: Staphylococcus aureus.....	36

## **Agradecimientos**

A nuestra tutora, Doctora Jessica León, quien mediante su conocimiento, paciencia y enseñanza supo guiarnos en el presente trabajo de titulación.

A la Doctora María Montaleza, quien mediante su conocimiento y disposición nos brindó mucho apoyo en la ejecución de la parte experimental del trabajo de titulación.

A la dirección del Mercado, que nos ayudó con los locales para trabajar y a las personas propietarias de los locales que supieron colaborarnos en todo momento.

Nixon Pacheco y José Luis Ureña



## Dedicatoria

Este trabajo se lo dedico a mi mami Rosa, quien me crio y me educó para bien, mi papi Claudio que nunca dejó de apoyarme, mi hermano Claudio, que siempre fue un guía, mi hermano Danilo quien me cuidó de pequeño, mi hermano Walter quien estuvo al pendiente de mí siempre y mi hermano Gustavo que nunca me dejó solo. Ellos, que desde que tengo noción de recordar, no han dejado de ayudarme, sacarme de momentos difíciles, que han estado siempre para mí y que son las personas que más aprecio de mi existencia, les debo el mundo y el por qué estoy aquí.

A mis cuñadas Diana, Eli, Fernanda y Mónica, quienes también me han apoyado y han hecho de mis hermanos unas mejores personas.

A mis queridas mascotas, en especial a Pipo, veterano que me acompañó toda mi vida de colegio y al Señor Pollo que no me dejó solo estos últimos años de universidad.

Y a todas las personas y amigos que conocí en mi trayectoria universitaria.

Nixon PP.

## Dedicatoria

El presente trabajo de titulación se lo dedico a:

Mis familiares más cercanos, en especial a mis hermanas y mi madre, quienes me supieron aconsejar y brindarme todo su apoyo, no solo durante esta etapa académica, sino a lo largo de mi vida.

A mis tíos y primos, que de igual manera mediante su apoyo y consejos hicieron de mí una persona de bien.

A mis amigos más cercanos, con quienes he compartido momentos muy agradables y he aprendido muchas cosas nuevas, que han sido de mucha utilidad tanto a nivel académico como fuera de ello.

José Luis U.

## Introducción

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) en la mayoría de los casos son de procedencia microbiana y tienen como principales agentes patógenos a *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Taenia solium*, virus de la hepatitis A, etc., y constituyen uno de los mayores problemas de salud en todo el mundo (Torrens et al., 2015). Los datos de 2023 indican que 1.600.000 personas al día se enferman por alimentos contaminados y 200 enfermedades están causadas y/o relacionadas con ETA (OMS, 2023).

Las ETA pueden presentarse en cualquier lugar, aunque se tiene mayor vulnerabilidad en espacios en los que existan prácticas de higiene inadecuadas, así como zonas en condiciones de aglomeración. Entre los lugares que presentan mayor número de brotes se encuentran los restaurantes o sitios de expendio de alimentos preparados, debido a las actividades que se realizan, así como la preferencia que tienen los individuos en el consumo de estos productos por su rápido servicio. Sin embargo, en los mismos hogares, comedores colectivos y escuelas pueden surgir brotes de ETA (Ulloa et al., 2020). Entre 2017 y 2016 fueron reportados 10.000 casos de intoxicaciones alimentarias provenientes de los establecimientos mencionados en Ecuador (Ministerio de Salud Pública, 2022). Además, se ha evidenciado un aumento en la incidencia de estas enfermedades a nivel mundial por la influencia de determinados factores como el cambio climático que conlleva a la resistencia antimicrobiana (el aumento de la temperatura puede favorecer el crecimiento de las bacterias resistentes en ambientes naturales), el aumento del empleo de aditivos (en el caso de la incorporación manual o dosis no adecuadas), aumento de la población (condiciones de hacinamiento que conlleva a servicios de saneamiento limitados) e incremento del comercio internacional de productos alimenticios (recorrido de largos trayectos para su comercialización) (Carrasco et al., 2017).

El problema de consumir alimentos que se encuentran en contacto directo con superficies vivas, por ejemplo, las manos de los manipuladores de productos alimenticios, o inertes contaminadas, radica en la probabilidad de presentar una alta carga microbiana, permitiendo la transferencia de microorganismos patógenos a la comida que, a su vez, constituye uno de los mayores factores de riesgo en las ETA. Por ejemplo, a nivel de superficies inertes como utensilios de acero inoxidable (cucharas y pozuelos) pueden perdurar por períodos prolongados microorganismos como *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* y *Serratia*. Por su parte, el contacto de alimentos con superficies vivas contaminadas se produce durante la manipulación de los productos alimenticios sin aplicar ninguna medida

higiénica (como uso de guantes) por parte de quienes preparan los alimentos. Como se sabe, la piel de las manos presenta una gran variedad de especies bacterianas como *Streptococcus*, *Staphylococcus* y/o *Corynebacterium*, que no representan un problema al individuo de forma habitual, pero pueden transmitirse a los alimentos o potenciar bacterias patógenas causantes de ETA, constituyendo una fuente de contaminación alimentaria importante a considerar (Fink et al., 2017).

Por esta razón, realizar un control sanitario en los procesos de limpieza y desinfección, junto con el análisis microbiológico de superficies vivas e inertes resultan importantes para la prevención del riesgo en la transmisión de agentes patógenos a fin de evitar las consecuencias dañinas que derivan de las enfermedades y perjuicios generados por los alimentos. Por lo que, un riguroso control de las superficies vivas e inertes que tengan contacto con los alimentos, evitará apariciones de ETA o situaciones de riesgo similares hacia el consumidor (Caicedo Hoyos, 2022).

Por medio del presente estudio se realizó el control microbiológico en el mercado 27 de febrero de la ciudad de Cuenca, Ecuador, con el fin de determinar si se cumple o no con los criterios microbiológicos establecidos en la Norma MINSA Resolución Ministerial N° 1 461-2007 para superficies inertes según los resultados que se obtengan.

**Objetivo General:**

- Evaluar los niveles de contaminación en superficies inertes de lugares de consumo de alimentos en el Mercado 27 de febrero, ubicado en Cuenca, Ecuador.

**Objetivos Específicos:**

- Comparar los niveles de coliformes totales y *E. coli* obtenidos de forma experimental con lo establecido en la normativa correspondiente.
- Establecer la relación existente entre la presencia de coliformes totales y *E. coli* con los procesos de limpieza y desinfección para superficies inertes.

**Hipótesis:**

Las superficies inertes analizadas del Mercado 27 de febrero cumplen con las especificaciones microbiológicas establecidas en la “Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas, Resolución Ministerial N° 1 461-2007/MINSA”.

## 1. Marco teórico

### 1.1 Inocuidad alimentaria

La inocuidad de los alimentos puede definirse como el conjunto de condiciones y medidas mínimas de higiene necesarias durante la producción, almacenamiento, distribución y manipulación de los alimentos para asegurar que una vez consumidos no representen ningún tipo de riesgo para la salud del consumidor (Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia, 2020).

La importancia de la inocuidad en los alimentos es fundamental para evitar brotes de ETA. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), una de cada 10 personas se enferma cada año por el consumo de alimentos contaminados, en especial, población vulnerable (niños, mujeres embarazadas y adultos mayores). La OMS indica que el suministro de alimentos inocuos fortalece las economías nacionales, el comercio y contribuye a la seguridad alimentaria y nutricional, promoviendo el desarrollo sostenible. Asimismo, fomenta que los productores se tornen más competitivos al vender productos alimenticios en mejores condiciones, es decir, de mejor calidad (OMS, 2020).

### 1.2 Enfermedades transmitidas por alimentos

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) resultan del consumo de productos alimenticios que contienen toxinas producidas por bacterias y/o agua contaminada con células de bacterias patógenas viables, virus o sustancias químicas tóxicas. Su alta incidencia a nivel global hace que sea un grave problema para el área de salud. Alrededor de 600 millones de personas en todo el mundo se enferman de forma anual tras consumir alimentos o agua contaminada (OMS, 2023).

#### 1.2.1 Manifestaciones de enfermedades transmitidas por alimentos

Las manifestaciones de las ETA son en general: aparición de vómitos, diarrea, dolor abdominal, cefalea y deshidratación. Dependen de la carga del agente etiológico (hongo, virus, bacteria) y que tan susceptible sea la persona que consumió el alimento. Desde el momento que la persona consume el alimento puede pasar una hora o hasta una semana para que aparezcan los síntomas mencionados, que es conocido como período de incubación. Las poblaciones más susceptibles a las ETA son niños, adolescentes y jóvenes adultos (Zúñiga Carrasco & Caro Lozano, 2017; Sotelo et al., 2019).

### 1.3 Tipos de enfermedades transmitidas por alimentos

Estas enfermedades se pueden clasificar en tres grupos:

### **1.3.1 Infección**

Resulta de la ingesta de alimentos y/o agua contaminada con bacterias o virus enteropatógenicos. Para que se produzca es necesario que las células permanezcan vivas en el alimento o en el agua durante su consumo. Las células viables, aunque se encuentren en pequeña cantidad, tienen la capacidad de establecerse y multiplicarse en el tracto digestivo de la persona y producir la enfermedad (Saá Cruz, 2014).

### **1.3.2 Intoxicación**

Se produce debido al consumo de toxinas bacterianas preformadas o de mohos (micotoxinas) que crecen en los alimentos, considerando que la toxina debe encontrarse en forma activa en el alimento contaminado. Cuando los microorganismos se desarrollan y generan toxinas en un alimento no es necesario que tenga células viables al momento de la ingesta para inducir la enfermedad (Saá Cruz, 2014).

### **1.3.3 Toxiinfección**

Es el resultado de la ingestión de una gran cantidad de células viables de algunas bacterias patógenas que se hallan en el agua o alimentos contaminados. Por lo general, las células no se multiplican en el tracto gastrointestinal, sino que esporulan, colonizan o mueren y liberan toxinas que provocan los síntomas (Saá Cruz, 2014).

## **1.4 Formas de contaminación alimentaria**

Por contaminación alimentaria se entiende aquellos factores que, al incidir sobre los alimentos y bebidas, generan alteraciones o situaciones de peligro en el hombre tras su consumo (Hernández Rodríguez, 2022).

Las formas de contaminación alimentaria pueden ser según la naturaleza del producto y/o por la contaminación cruzada que, a su vez, se clasifica en directa o indirecta (superficies de contacto). Se entiende por contaminación cruzada a la introducción de un agente físico, químico o biológico a partir del traslado de materiales, alimentos contaminados o circulación del personal que pueda comprometer la inocuidad e higiene alimentaria (ARCSA, 2015; ARCSA, 2022).

- **Por la naturaleza del producto**

Se refiere a los alimentos que en su composición natural existen bacterias u otras sustancias que forman parte del alimento. Si no existe un tratamiento de cocción previo al consumo, puede derivar en una ETA. Un ejemplo es la carne de pollo que presenta de forma natural en su composición bacterias de *Salmonella* (ARCSA, 2015).

- **Contaminación cruzada directa**

Se produce cuando los alimentos reciben directamente residuos o sustancias por superficies vivas como las manos. Esto se genera principalmente en los operarios que manipulan los alimentos para su procesamiento. Por ejemplo, en el proceso de elaboración de los embutidos se manipulan diversos productos cárnicos y si no existe un adecuado lavado de manos por parte de los operarios, los restos cárnicos pueden pasar a otros alimentos (ARCSA, 2015).

- **Contaminación cruzada indirecta**

Se define como el paso de sustancias contaminantes desde un alimento contaminado hacia otro no contaminado por contacto de superficies inertes contaminadas. En la preparación de alimentos es bastante común usar utensilios para picar alimentos crudos y emplear los mismos utensilios para tratar otros alimentos ya cocinados sin aplicar procesos de limpieza y desinfección (ARCSA, 2015).

- **Superficies de contacto**

Hace referencia a aquellas superficies que entran en contacto con los alimentos. Estas pueden ser:

- **Superficies vivas:** se refiere a las partes externas del cuerpo humano que tienen contacto con los utensilios o equipos durante su manipulación y el consumo de alimentos. En el caso de los seres humanos la piel, boca, fluidos corporales, intestinos, sangre y manos tienen en su composición microorganismos comensales, y al no llevar una correcta higiene, traspasan a los alimentos manipulados presentando un foco de contaminación (Castillo & Aguirre, 2015). En la figura 1 se indican los límites microbiológicos para superficies vivas en base a la normativa MINSA.



**Figura 1. Límites microbiológicos para superficies vivas por el método del enjuague.**

Superficies vivas		
Método del Enjuague		
Ensayo	Límite de detección	Límite Permitido (*)
<b>Coliformes Totales</b>	<100 UFC/manos	<100 UFC/manos
<i>Staphylococcus aureus</i>	<100 UFC/manos	<100 UFC/manos
<i>Escherichia coli</i>	Ausencia/manos	Ausencia/manos
(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.		

**Fuente:** (MINSA, 2007)

- **Superficies inertes:** Son las áreas (como los mesones) o utensilios que están involucrados en el proceso de elaboración o almacenamiento de los alimentos. Constituyen un grave problema dentro de las fuentes de contaminación si no son controlados como el caso de restaurantes o puestos de comida ambulantes (Castillo & Aguirre, 2015; Escobedo López et al., 2016). En la figura 2 se indican los parámetros microbiológicos para superficies inertes según la normativa MINSA.

**Figura 2. Límites microbiológicos para superficies inertes por método del hisopo.**

Superficies Inertes				
Método del hisopo	Superficie Regular		Superficie Irregular	
Ensayo	Límite de detección	Límite Permitido (*)	Límite de detección	Límite Permitido (*)
<b>Coliformes Totales</b>	< 0,1 UFC/ cm <sup>2</sup>	< 1 UFC / cm <sup>2</sup>	< 10 UFC / superficie	< 10 UFC / superficie
<i>Escherichia Coli</i>	Ausencia/superficie en cm <sup>2</sup> (**)	Ausencia/superficie en cm <sup>2</sup> (**)	Ausencia/superficie	Ausencia/superficie
(*) En las operaciones analíticas, estos valores son indicadores de ausencia.				
(**) Indicar el área muestreada, la cual debe ser mayor o igual a 100 cm <sup>2</sup> .				

**Fuente:** (MINSA, 2007)

En Ecuador no se dispone de una reglamentación que establezca los parámetros microbiológicos para las superficies tanto vivas como inertes que entran en contacto directo con los productos alimenticios durante su preparación. Es por esto que se tomó como referencia la Normativa Sanitaria Peruana Resolución Ministerial N° 461-

2007/MINSA, que establece los criterios microbiológicos para la evaluación de las condiciones higiénico-sanitarias de las superficies de contacto, con el fin de asegurar los requisitos mínimos sanitarios durante el proceso de elaboración, almacenamiento y expendio de alimentos y bebidas destinados al consumo humano (MINSA, 2007).

### **1.5 Buenas prácticas de manufactura en la prevención de ETA**

Para conseguir alimentos inocuos resulta importante la aplicación de buenas prácticas de manufactura (BPM) y mantener condiciones de salubridad de calidad como lo recomienda la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) (Fernández, et al., 2021).

Durante la elaboración de alimentos sea a escala industrial o artesanal, es importante tener conocimiento respecto a cómo tratar los alimentos y las buenas prácticas de manufactura con su respectiva aplicación. Así pues, el estado de salud de los manipuladores es vital, siendo necesario un control al menos una vez al año. La microbiota comensal de las personas puede contagiar los productos y en caso de padecer enfermedades la probabilidad de contaminación es mayor. Si un operador presenta cortes o algún tipo de lesión expuesta se debe notificar de forma inmediata tal situación. Además, el personal debe recibir capacitación y mantener buenos hábitos de higiene (Fernández, et al., 2021).

Por otra parte, los Procedimientos Operativos Estandarizados de Trabajo (POE) son documentos por escrito que indican de forma detallada y en un orden determinado las instrucciones y protocolos mínimos necesarios para prevenir la contaminación de los alimentos, garantizando la inocuidad y seguridad alimentaria (Guambi et al., 2022). Para el presente estudio, los locales de expendio de comida del mercado 27 de febrero disponían de POE para limpieza y desinfección de superficies vivas e inertes, ya que los utensilios de cocina como cuchillos, picadoras o tablas de picar, deben ser usados para un tipo de alimento específico, pero si se emplean para manipular alimentos de diferente naturaleza será necesaria la limpieza y desinfección de forma frecuente, así como un correcto lavado de manos por parte de los manipuladores de alimentos, con el fin de evitar la contaminación cruzada.

## 1.6 Microorganismos indicadores de calidad de superficies vivas e inertes

### 1.6.1 Coliformes totales

Se trata de bacilos gramnegativos aerobios o anaerobios facultativos que pueden fermentar la lactosa con producción de gas. Abarcan varios géneros de bacterias como *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Yersinia* y *Escherichia coli*. Los coliformes se pueden encontrar en vegetales, suelo, materia orgánica en descomposición o en las vísceras de mamíferos. Estas bacterias se encuentran en alimentos crudos o cuando los hábitos de higiene son deficientes durante la práctica alimentaria. Si bien su presencia no necesariamente indica que hubo contaminación bacteriana, es necesario un control para que no sobrepasen los límites microbiológicos y generen daño a la salud (Larrea-Murrell et al., 2013).

### 1.6.2 *Escherichia coli*

Es una bacteria indicadora de contaminación fecal muy importante que proviene de los intestinos de mamíferos (incluido el ser humano), considerado bacilo gramnegativo que fermenta la lactosa produciendo gas y se encuentra en varios productos alimenticios como carne, mariscos, agua, legumbres, entre otros, estableciendo una fuente de contaminación alimentaria, por lo que, su detección sirve como indicador de calidad microbiológica. Al estar en contacto con heces de animales y de personas es muy probable que exista contaminación cruzada, por lo que, se recomienda el lavado correcto de manos. Existen varias cepas con diferentes grados de virulencia que han sido catalogados como grupos patógenos: *E. coli* enteropatogénica (EPEC), *E. coli* enteroagregante (EAEC), *E. coli* enterotoxigénica (ETEC), *E. coli* de adhesión difusa (DAEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC) y *E. coli* enterohemorrágica (EHEC) (Allocati et al., 2013).

Las superficies vivas como las manos no presentan de forma habitual microorganismos como coliformes totales y *E. coli*. No obstante, se puede llegar a contaminar con dichos microorganismos por el contacto con el suelo, vegetales y/o materia fecal. La presencia de coliformes totales y *E. coli* se relaciona con la higiene de las personas que preparan alimentos y son un importante indicador para evaluar la calidad microbiana de superficies vivas e inertes (Lacaze & Giubi, 2014).

### 1.6.3 *Staphylococcus aureus*

Son bacterias grampositivas aerobias o anaerobias facultativas que crecen a temperatura de 37 °C. Pueden producir enzimas como la coagulasa, fosfatasa y desoxirribonucleasa. Además, producen toxinas como la hemolisina y enterotoxina. Es una bacteria propia de la microbiota comensal de la piel y su presencia en alimentos se asocia a la falta de higiene de manipuladores de alimentos, resultando de utilidad en los controles microbiológicos de superficies vivas (Yungán, 2017). *S. aureus* es un microorganismo que coexiste con los seres humanos y puede ser oportunista, causando diversos tipos de infecciones que van desde superficiales hasta graves y/o mortales. Esta bacteria se considera patógeno debido a su capacidad para producir toxinas, su invasividad y su resistencia a los antibióticos. Es especialmente preocupante en entornos hospitalarios y comunitarios, y aunque no produce esporas, puede contaminar los alimentos durante su procesamiento y manipulación. Su crecimiento se produce en un amplio rango de temperaturas (30 - 37 °C como temperatura óptima), pH entre 4.2 a 9.3 y concentraciones de sal de hasta 15%. La bacteria es capaz de sobrevivir en superficies secas y estresantes, como la piel y la ropa. Además, *S. aureus* puede permanecer viable durante largos períodos en superficies y manos después del contacto inicial (Zendejas-Manzo et al., 2014).

## 2. Metodología

### 2.1 Tipo de estudio

Se desarrolló un estudio observacional de tipo descriptivo de corte transversal.

### 2.2 Área de estudio

Se recolectaron muestras de superficies vivas e inertes de locales de comida (excluyendo los puestos de jugos debido a que únicamente se consideraron los de comida para el análisis) del Mercado 27 de febrero, durante el período febrero – marzo 2023 y los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Universidad de Cuenca.

### 2.3 Muestreo y tamaño de la muestra

El estudio se llevó a cabo en 20 locales que preparan y expenden comida, seleccionados en coordinación con la dirección del mercado y previo consentimiento de los dueños de los locales. De cada local se examinaron utensilios en común: cuchillos, platos, ollas, pozuelos y tablas de picar. Para establecer una relación con el análisis de superficies inertes, se tomaron 10 muestras (superficies vivas) de los manipuladores de alimentos al azar. Se tomó como referencia la Guía Técnica Peruana para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas. El proceso de muestreo se llevó a cabo durante dos semanas, por 3 días consecutivos para cada local. En total, se determinaron 300 muestras de superficies inertes y 10 de superficies vivas. Todos los análisis se realizaron por duplicado luego de la aplicar el proceso de limpieza y desinfección para utensilios y manos.

Los parámetros microbiológicos analizados para superficies inertes fueron coliformes totales y *Escherichia coli*, mediante el recuento en Placas Petrifilm™. Las muestras fueron recolectadas por medio del método del hisopo y colocadas en agua de peptona al 0.1% en tubos de tapa rosca con 10 mL de solución, previamente etiquetados. Posterior a esto, fueron transportadas en un recipiente isotérmico (cooler) que contenía un gel refrigerante para mantener una temperatura adecuada entre 2 - 8 °C hasta el traslado al laboratorio de Microbiología de alimentos de la Universidad de Cuenca.

Para superficies vivas se determinó la presencia/ausencia de coliformes totales/*E. coli* y *Staphylococcus aureus* en placas Petrifilm™. Las muestras fueron recolectadas por el método del enjuague y colocadas en fundas ziploc con 100 mL de agua de peptona estéril

al 0.1%. Se procedió a trabajar bajo las mismas condiciones que las superficies inertes para el posterior análisis en el laboratorio. En algunas muestras se trabajó con diluciones por los recuentos altos obtenidos y para conocer un estimado del número de colonias.

## 2.4 Materiales, equipos y reactivos

### Materiales

- Tubos tapa rosca
- Pipetas serológicas de 10 y 1 mL
- Matraz de Erlenmeyer de 500 mL
- Hisopos
- Varillas
- Gradillas para tubos
- Peras de succión
- Vasos de precipitación de 500 mL

### Equipos

- Autoclave N° serie 91997, marca All American, modelo 930
- Estufa Fanem N° serie 91974
- Contador de colonias marca Quebec
- Refrigerador marca Electrolux
- Balanza Analítica N° serie 14952, marca Ohaus, modelo Scout II

### Reactivos

- Peptona al 0.1%
- Agua destilada
- Placas Petrifilm

## 2.5 Métodos y técnicas de análisis

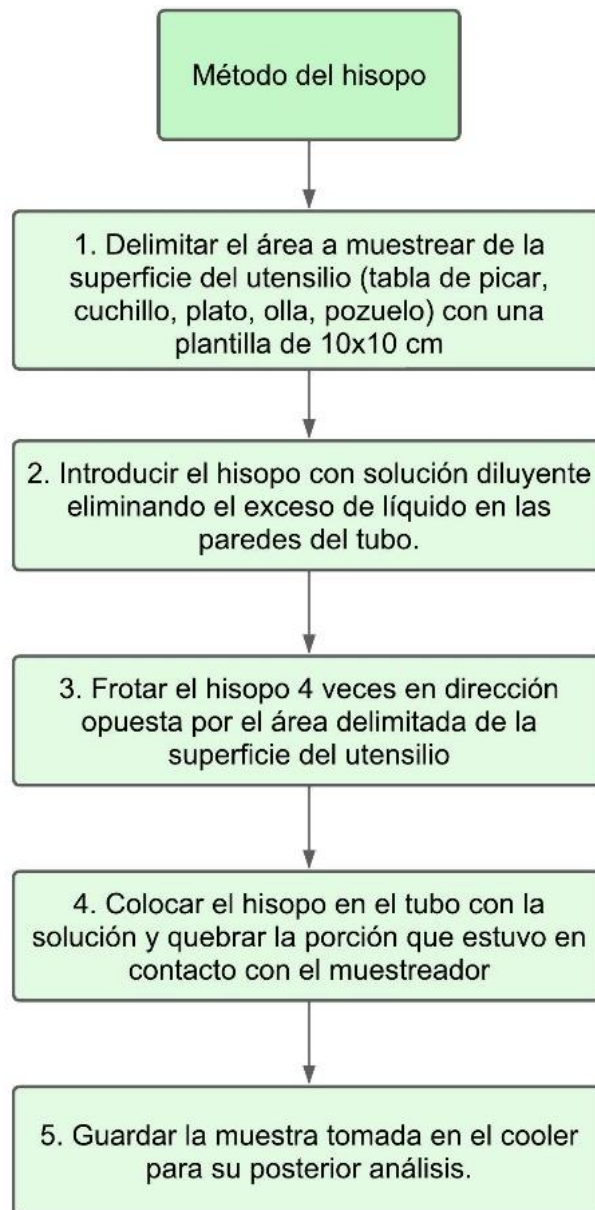
### 2.5.1 Método del hisopo para superficies inertes

El hisopado es una técnica de muestreo muy antigua empleada para la recolección de muestras de alimentos o de superficies que estuvieron en contacto con alimentos. Al realizar este método, las bacterias quedan atrapadas en la punta absorbente del hisopo que se introduce en un tubo que contiene agua de peptona al 0,1%, constituyendo un medio de cultivo para el crecimiento de microorganismos y su posterior inoculación en placas Petrifilm (Griffith, 2016; Ríos-Castillo et al., 2020).

En la **figura 3** se explica el procedimiento realizado para la toma de muestras de superficies

inertes por el método del hisopo.

**Figura 3. Proceso de muestreo por el método del hisopo**



**Fuente:** (MINSa, 2007)

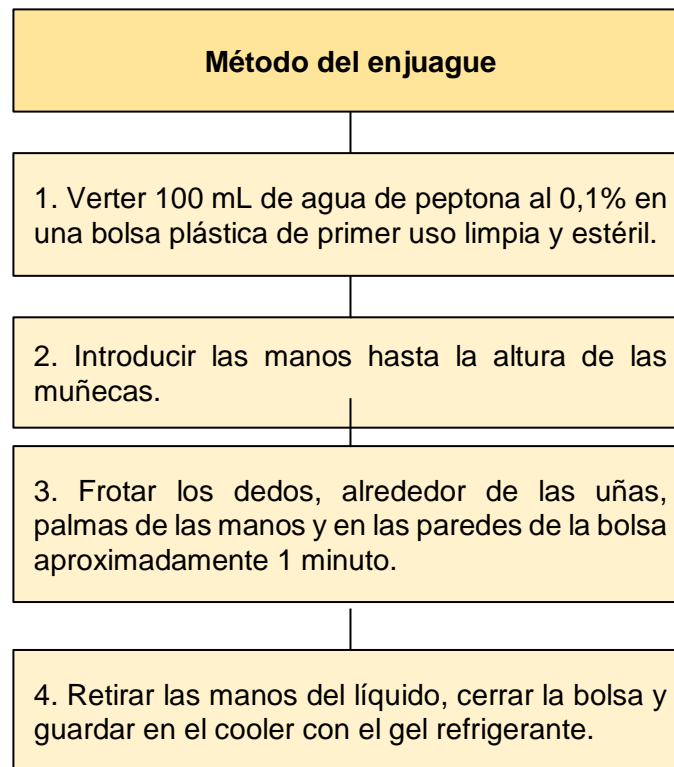
Las superficies inertes analizadas fueron: platos, ollas, pozuelos, cuchillos y tablas de picar. Las cuatro primeras se tratan de superficies irregulares, mientras que las tablas de picar son regulares. Las muestras fueron tomadas empleando una alícuota de 10 mL de agua de peptona al 0.1% (MINSa, 2007).

### 2.5.2 Método del enjuague para superficies vivas

Permite recuperar microorganismos de superficies vivas que entran en contacto con alimentos, así como muestrear superficies más grandes. El método se basa en la recuperación de microorganismos que quedan remanentes a nivel de las superficies vivas, como las manos, sumergiéndolas en una solución estéril dónde se frota entre sí para liberar las bacterias en la solución. El tiempo de frotamiento dependerá del instructivo que se use (Griffith, 2016). El medio que entra en contacto con la superficie viva (el agua de peptona) debe estar a temperatura ambiente porque de lo contrario las bacterias retenidas podrían perecer (Ismail et al., 2013).

En la **figura 4** se describe el método del enjuague aplicado para el muestreo de superficies vivas.

**Figura 4. Proceso de muestreo por el método del hisopo**



Fuente: (MINSa, 2007)

### 2.6 Recuento microbiológico mediante placas petrifilm

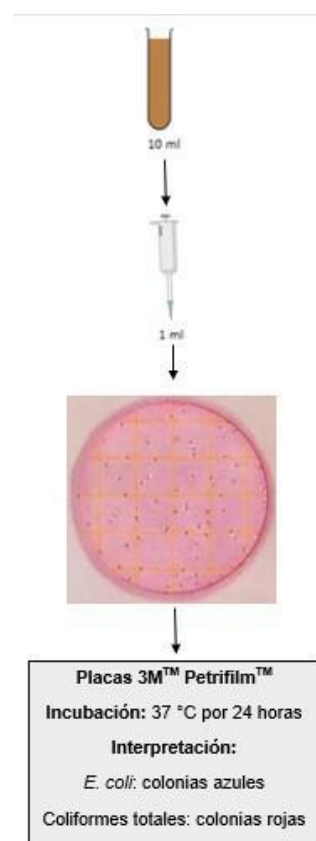
El recuento en placas petrifilm resulta de fácil aplicación, cuyo uso está aprobado por la AOAC (Asociación Internacional de Químicos Analíticos), ya que los indicadores de actividad enzimática como la glucuronidasa ayuda a distinguir entre colonias de coliformes totales y *E. coli* (FDA, 2020).



### 2.6.1 Coliformes totales/*Escherichia coli*

*Recuento en placa Petrifilm E/C.* Las placas Petrifilm contienen agar selectivo bilis rojo violeta (VRBA), un tipo de agar que contiene sales biliares, violeta cristal y lactosa. La presencia de bilis y violeta inhibe el crecimiento de bacterias gram positivas y coliformes. El Manual de Análisis Bacteriológico de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de Estados Unidos define a los coliformes totales como bacterias gram negativas que producen gas y ácido proveniente de la lactosa por fermentación. Las colonias de coliformes manifiestan un color rosa salmón dentro del agar VRBA (3M, 2015).

En cuanto a *E. coli*, los medios petrifilm también presentan la enzima glucuronidasa (indicador) en su composición. Las bacterias de *E. coli* tienen beta-glucuronidasa que en reacción con el indicador producen una coloración azul o rojo-azul, por lo que, las colonias típicas de *E. coli* presentan dicha coloración (FDA, 2020). A continuación, se describe el proceso de análisis efectuado para la determinación de Coliformes totales/*E. coli* en las muestras de superficies inertes (**figura 5**).



**Figura 5. Determinación de coliformes totales/*E. coli* en superficies inertes mediante placas Petrifilm.**

### 2.6.2 *Staphylococcus aureus*

Las placas Petrifilm Staph Express para recuento de *S. aureus*, contienen agente gelificante que es soluble en agua fría. Se trata del medio de cultivo cromogénico Baird Parker modificado, que es diferencial y selectivo de dicho microorganismo. La presencia única de colonias color rojo-violeta indica la presencia de *S. aureus*, mientras que si existen colonias verdosas o de color negro se debe emplear el disco Staph Express Petrifilm, que permite diferenciar entre estas bacterias por la existencia de un indicador y ácido desoxirribonucleico (DNA). *S. aureus* es productor de desoxirribonucleasa (DNasa) que al reaccionar con el indicador forma halos de color rosado (3M, 2021). En la **figura 6** se muestra el procedimiento para la detección de *S. aureus* en placas Petrifilm para superficies vivas.

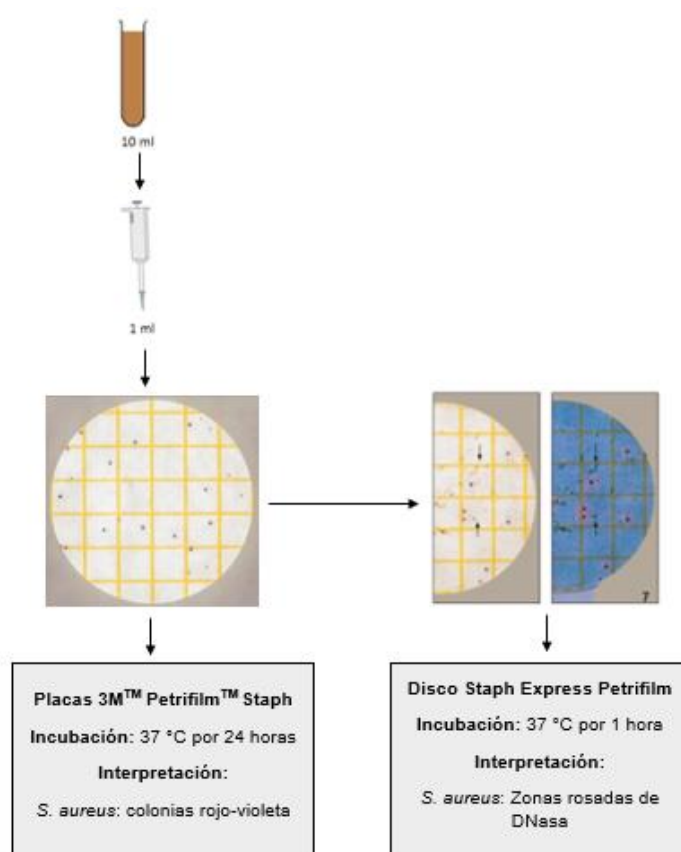


Figura 6. Determinación de *S. aureus* en superficies vivas mediante placas Petrifilm.

## 2.7 Cálculos

### 2.7.1 Superficies inertes

- **Superficies regulares:** para determinar el número de coliformes totales se multiplicó las unidades formadoras de colonias (UFC) por el volumen de la solución diluyente

depositada en el tubo (10 mL) y el factor de dilución (si aplica) dividido para el área trabajada (100 cm<sup>2</sup>). El Resultado se expresó en UFC/cm<sup>2</sup> o *Ausencia/100 cm<sup>2</sup>*. En caso que exista crecimiento de colonias de *E. coli* se aplica el mismo cálculo (MINSa, 2007). Por ejemplo:

$$\begin{aligned}\text{Coliformes totales (CT)} &= (\text{UFC} \cdot 10 \text{ mL} \cdot \text{Factor de dilución}) / 100 = (50 \cdot 10 \cdot 10^{-1}) / 100 \\ &= 0,5 \text{ UFC/cm}^2\end{aligned}$$

- **Superficies irregulares:** se multiplicó la cantidad de colonias o UFC por el volumen de la alícuota de la solución depositada en el tubo (10 mL). Los resultados se expresaron como UFC/utensilio o *Ausencia/superficie muestreada*. Se procede de igual manera para *E. coli* (MINSa, 2007).

### 2.7.2 Superficies vivas

Se multiplicó el número de colonias o UFC por el factor de dilución (si aplica) y por el volumen de solución diluyente utilizada en el muestreo (100 mL). Los resultados fueron expresados en *UFC/manos* (MINSa, 2007).

## 2.8 Análisis estadístico

Los datos se obtuvieron por medio del programa de Microsoft Excel versión 2019 aplicando estadística descriptiva, para el cálculo de la media ( $\bar{X}$ ), desviación estándar (DE), límites máximos y mínimos.

### **3. Resultados y discusión**

En el presente estudio de investigación, se realizó el análisis del control microbiológico de 5 superficies inertes (cuchillo, pozuelo, plato, olla, tabla de picar) por duplicado de cada uno de los 20 locales de preparación y expendio de comida (se tomaron 15 muestras por cada local) más el análisis de 10 superficies vivas en el Mercado 27 de febrero.

#### **3.1 Análisis microbiológico de superficies inertes**

Este proceso se llevó a cabo en tres días consecutivos para la toma de muestras de los utensilios mencionados, se muestrearon 10 locales la primera semana y los 10 locales restantes la segunda semana. En total fueron analizadas 300 superficies por duplicado.

##### **3.1.1 Coliformes totales**

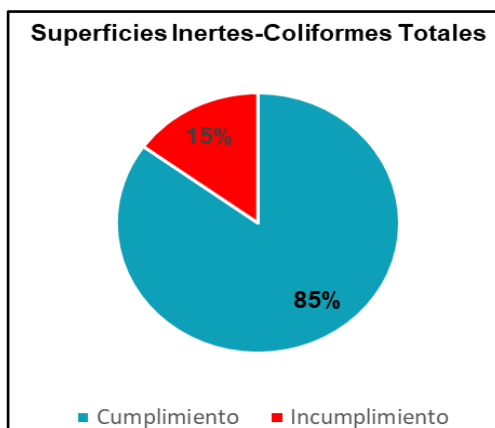
Mediante este análisis se determinó la calidad higiénica de las superficies inertes en contacto con los alimentos. En la tabla 1 se observan los resultados del análisis microbiológico de coliformes totales, misma que indica los recuentos mínimos y máximos obtenidos para cada utensilio por el total de locales seleccionados de los 3 días muestreados. A partir de los recuentos obtenidos se determinó el porcentaje de cumplimiento de la norma MINSA para coliformes totales según el tipo de superficie inerte (Ver Anexo A), siendo el 60% de cumplimiento para el total de tablas de picar analizadas, 100% de cumplimiento para el total de platos muestreados, 95% de cumplimiento para el total de ollas examinadas, 100% de cumplimiento para el total de los pozuelos analizados y 70% de cumplimiento para el total de los cuchillos. Los utensilios que presentaron un menor grado de cumplimiento de la norma MINSA fueron las tablas de picar, seguido de los cuchillos y ollas.

**Tabla 1. Análisis estadístico de microorganismos indicadores de calidad para superficies inertes: coliformes totales.**

Superficies inertes	Microorganismo indicador	Recuentos Min - Máx	% Cumplimiento MINSA	Límite Permitido UFC/utensilio
Tablas de picar	Coliformes totales	0 - 2,91	60	< 1 UFC / cm <sup>2</sup>
Platos		0 - 0	100	< 10 UFC / superficie muestreada
Ollas		0 - 1,32 x 10 <sup>1</sup>	95	
Pozuelos		0 - 0	100	
Cuchillos		0 - 3,18 x 10 <sup>2</sup>	70	

En base a los recuentos mínimos y máximos obtenidos del total de superficies inertes analizadas, correspondientes a 100 muestras, el 85% cumplió con los parámetros microbiológicos de la norma MINSA (Ver gráfico 3), siendo únicamente los platos y pozuelos los utensilios que no presentaron incumplimiento de la normativa (Ver anexo B).

Por otro lado, el 15% del total de muestras no cumplió los criterios microbiológicos de la normativa MINSA (Ver figura 7), donde el 8% corresponde a tablas de picar, el 6% a cuchillos y el 1% a ollas. Las muestras que no cumplieron los criterios microbiológicos se observan en el anexo A y B.



**Figura 7. Porcentaje de cumplimiento e incumplimiento en base a la normativa MINSA de coliformes totales para superficies inertes.**

Las muestras de tablas de picar reportaron valores entre 0 - 2,91 UFC / 100 cm<sup>2</sup>, las de cuchillos entre 0 – 3,18 x 10<sup>2</sup> UFC / 2 cuchillos y las de ollas entre 0 – 1,32 x 10<sup>1</sup> UFC / olla (Ver anexo B). Un estudio realizado por Jiménez Herráez (2016), evaluó los niveles de coliformes totales de superficies inertes de tablas de picar y cuchillos de picanterías de la parroquia El Batán de la ciudad de Cuenca. En las tablas de picar se encontraron valores de coliformes totales entre 0,5 - 6,85 x 10<sup>1</sup> UFC/100 cm<sup>2</sup> y para cuchillos valores de 2,58 x 10<sup>3</sup> - 1,47 x 10<sup>5</sup> UFC/superficie muestreada. Los altos recuentos de coliformes totales pudieron deberse a la naturaleza del material usado o por las prácticas deficientes de higiene por parte de los preparadores de alimentos en las picanterías muestreadas.

Para el presente estudio las tablas de picar utilizadas por los preparadores de comida fueron de madera y de plástico. A diferencia de este último, la madera es susceptible al desarrollo microbiano. Un estudio de García-Ortiz et al., (2018) menciona que la composición orgánica de la madera (celulosa 40–61%, hemicelulosa 15-30% y lignina 17-35%) es vulnerable al deterioro microbiológico, en especial, la madera en uso (como las tablas de picar) se encuentra expuesta a bacterias y hongos, que al nutrirse de sus macromoléculas provocan su degradación. También degradan polímeros estructurales que debilitan la pared celular, con la alteración de la estructura cristalina de estos polímeros favoreciendo el desarrollo de estos microorganismos deterioradores. En una investigación de Mohammad & Al-Taee (2018), compararon la recuperación de bacterias en tablas de madera y plástico tras aplicar alimentos en sus superficies, encontrando que en las tablas de plástico es más fácil recuperar microorganismos. Sin embargo, la madera al no ser tratada higiénicamente y por su composición orgánica puede retener bacterias. Además, los cortes profundos en las tablas de picar ya sean de madera o plástico de no ser bien sanitizados permiten una proliferación microbiana alta. Esto explica los recuentos altos de coliformes totales reportados en el 40% de las muestras de tablas de picar (Anexo B).

Los cuchillos, que son de acero inoxidable en la mayoría de los casos, garantizan una higiene duradera y evitan la formación de cualquier medio en el que pueda darse el crecimiento bacteriano (Suescún-Carrero & Ávila-Panche, 2017). Sin embargo, en el presente estudio existieron cuchillos que tenían mango de madera y aberturas que, si no son lavados de manera correcta y de forma frecuente se puede inducir crecimiento bacteriano. Esto se puede corroborar con el 30% de las muestras de cuchillos que presentaron recuentos de coliformes totales altos (Anexo B).

Gómez et al., (2011) indican que tanto el cuchillo como la tabla de picar son muy utilizados en la preparación de alimentos al ser superficies que están en contacto con las manos y productos alimenticios y, por tanto, constituyen vectores de contaminación cruzada por concentrar y diseminar gérmenes de todo tipo. Asimismo, la presencia bacteriana a nivel de estos utensilios puede deberse al constante tránsito del personal, por la diversidad de alimentos preparados o simplemente porque no son lavados de forma frecuente y adecuada. Según Téllez (2010), la deposición de los microorganismos sobre estas superficies inertes genera biofilms, cuyo componente principal es el agua, condición que favorece la proliferación bacteriana. En general, cualquier microorganismo puede producir biofilms en condiciones adecuadas, pero algunos presentan mayor predisposición a hacerlo de forma natural. La formación de esta biopelícula puede aumentar la resistencia de las bacterias frente a los desinfectantes, suponiendo un peligro en cuanto a la higiene y seguridad en los diferentes entornos.

En otra investigación realizada por Escobedo et al., (2016) manifestaron que los utensilios con mayor porcentaje de microorganismos patógenos fueron los cuchillos y tablas de picar, lo que significa que a nivel de estas superficies se encuentran la mayoría de patógenos. Explicaron que este suceso puede deberse a la contaminación cruzada que se genera por no cambiar o lavar los cuchillos y tablas de picar cuando se pasa de un alimento a otro. Entre los principales microorganismos identificados en esta investigación se describe *Escherichia coli*.

En el estudio de control microbiológico de superficies inertes en los comedores del Distrito de Gregorio Albarracín, Perú, se indica que los datos obtenidos para coliformes totales en las superficies de los cuchillos sobrepasan el límite permisible según la norma sanitaria peruana. Los cuchillos evaluados aparentaban estar limpios y listos para utilizar, siendo estos una fuente para que se produzca la contaminación cruzada indirecta (Flores, 2015). Esto se evidencia con los datos obtenidos para el presente estudio en el análisis de coliformes totales de los cuchillos, que de igual manera presentaron valores superiores al límite permisible según la normativa peruana.

En el caso del recuento alto de coliformes totales para las 3 muestras de ollas de las 60 analizadas, correspondientes al 5% del total de incumplimiento de la normativa y pertenecientes al mismo local de comida, se observó un inadecuado proceso de limpieza y desinfección por parte de la preparadora de alimentos, considerando que todas las

muestras de ollas fueron de acero, es decir, un material muy usado en ollas de cocina, debido a que su acabado en las superficies no permite la adherencia bacteriana. Además, las superficies y materiales de acero facilitan la limpieza siempre y cuando no exista corrosión (Bohinc et al., 2016).

En un estudio realizado en Argentina en un comedor de la Universidad Nacional de Río Cuarto, se analizaron los recuentos microbiológicos de superficies inertes (ollas) tras aplicar un método de limpieza que disponían los preparadores de alimentos. En todas las muestras de ollas hubo ausencia de crecimiento y concluyeron que el resultado de ausencia se debe a la efectividad de los métodos de limpieza aplicados (Pena, 2018).

El porcentaje de cumplimiento para coliformes totales en todas las muestras analizadas de los platos fue del 100%, de acuerdo a la normativa MINSA. En un estudio de Flores Huamán, (2021) que implementó procedimientos generales de higiene (PGH), se llevó a cabo la validación de un procedimiento sobre el lavado de superficies inertes (platos) mediante el recuento microbiológico de coliformes totales. Los resultados mostraron que los recuentos de coliformes de las superficies de platos fueron  $< 10$  UFC/plato (límite permisible), dando como aceptada la validación y usando como referencia la normativa peruana. Esto se contrasta con los resultados del presente estudio dado que los preparadores de alimentos del mercado si poseían un procedimiento de lavado de utensilios manuales.

De igual manera, el porcentaje de cumplimiento para coliformes totales en las muestras examinadas de los pozuelos fue del 100%, según la norma MINSA. Un estudio de Guimarães et al., (2018) evaluó la calidad microbiológica de los utensilios de cocina (entre ellos los pozuelos) de un restaurante comercial y otro restaurante institucional. Concluyeron que los pozuelos si presentan cierto grado de contaminación por coliformes totales, aunque no se indica el dato o porcentaje de incumplimiento, y que los preparadores de alimentos deben sanitizar con mayor frecuencia dichos utensilios por su facilidad de limpieza y así evitar la contaminación cruzada. Cabe mencionar que, el análisis de Guimarães et al., (2018) no detalla si existe un procedimiento de limpieza para los utensilios, contrario al presente estudio que si dispone.

### 3.1.2 *Escherichia coli*

La presencia de *E. coli* en superficies inertes es indicativo de contaminación fecal o por parte de los manipuladores de alimentos, debido a malas prácticas de higiene durante el proceso de lavado y preparación de los productos alimenticios. En la tabla 2 se observa



el análisis estadístico de *E. coli*, misma que indica los recuentos mínimos y máximos obtenidos para cada utensilio por el total de locales seleccionados. El porcentaje de cumplimiento para los resultados de *E. coli* fue del 100% en todas las superficies inertes, es decir, no se determinó la presencia de este microorganismo (Ver anexo C y D).

**Tabla 2. Análisis estadístico de microorganismos indicadores de calidad para superficies inertes: *Escherichia coli*.**

Superficies inertes	Microorganismo indicador	Recuentos Min - Máx	% Cumplimiento o MINSA	Límite Permitido UFC/utensilio
Tablas de picar	<i>E. coli</i>	0 - 0	100	Ausencia / superficie muestreada en cm <sup>2</sup>
Platos		0 - 0	100	Ausencia / superficie muestreada
Ollas		0 - 0	100	
Pozuelos		0 - 0	100	
Cuchillos		0 - 0	100	

La ausencia de estos microorganismos indicadores de inocuidad en las muestras analizadas, reportándose como Ausencia/superficie muestreada (ver anexo D), evidencia que los manipuladores de alimentos del mercado presentan una adecuada aplicación en los procesos de limpieza y desinfección. Según Nevárez (2007); Herrera & Toribio (2012), se menciona que la higiene de las superficies, equipos y utensilios resultan fundamentales en la ejecución de las buenas prácticas de manufactura. Por lo que, resulta imprescindible el uso correcto de desinfectantes y la aplicación de procedimientos de limpieza a nivel de estas superficies.

En un estudio realizado por García (2015), menciona que los valores para *E. coli* en superficies inertes (tablas de picar) en contacto con los alimentos, 8 muestras del total de 20 sobrepasaron el límite permisible, representando el 40% del total. Además, menciona que una de las causas por las que se pueden encontrar estos microorganismos puede deberse a una incorrecta desinfección de los materiales empleados o mal lavados.

En la investigación de Arroba & Anabel (2018), indican que del total de 16 muestras de superficies inertes analizadas en referencia a microorganismos patógenos (*E. coli*), el 100% de los ensayos se encuentran dentro de los criterios microbiológicos de la normativa MINSA, reportándose como ausencia / cm<sup>2</sup>. Por lo que, se puede afirmar que en el presente estudio existe un cumplimiento del procedimiento de lavado y desinfección que disponen los locales muestreados, dado que los utensilios cumplen con los límites microbiológicos para *E. coli*.

### 3.2 Análisis microbiológico de superficies vivas

El proceso se llevó a cabo en tres días consecutivos para la toma de muestras de manos de los manipuladores de los alimentos y/o comida. Se tomaron 5 muestras la primera semana y 5 muestras la segunda semana de manera aleatoria.

#### 3.2.1 Coliformes totales/*Escherichia coli*

Estos microorganismos permiten conocer la calidad higiénica y fecal, por lo que, su ausencia indica buenas prácticas de higiene por parte de los manipuladores al momento de la preparación de alimentos y/o comida. Los datos obtenidos en la tabla 3 muestran que el 100% de las muestras de superficies vivas cumplen con el límite permitido para coliformes/*E. coli* de la normativa MINSA. Además, se indican los recuentos mínimos y máximos obtenidos para coliformes totales/*E. coli* de los 3 días muestreados de los locales, a partir del cual se determinó el porcentaje de cumplimiento de la norma MINSA (Ver Anexo E). Al cumplir el 100% de las muestras con la normativa se reporta como < 100 UFC/manos para coliformes totales y Ausencia/manos para *E. coli* (Ver anexo F).

**Tabla 3. Análisis estadístico de microorganismos indicadores de calidad para superficies vivas: coliformes totales/*Escherichia coli*.**

Superficies vivas	Microorganismo indicador	Recuentos Min - Máx	% Cumplimiento MINSA	Límite Permitido
Manos	Coliformes	0 - 0	100%	<100 UFC/manos
	<i>E. coli</i>	0 - 0	100%	Ausencia/manos

Este análisis difiere con el estudio de Caro-Hernández & Tobar (2020), realizado en México en puestos de comida ubicados cerca de una universidad local, dónde se tomaron

muestras de las manos para analizar coliformes totales en dos períodos: el primero fue previo aviso y con consentimiento de los dueños de los locales y el segundo se hizo tras haber realizado una charla sobre higiene para los preparadores de alimentos. Los autores concluyeron que la mayoría de los preparadores cumplen con los límites microbiológicos de la normativa peruana (86%), pero el porcentaje restante (14%) sí presentó contaminación. Tras realizar pruebas bioquímicas de identificación de las muestras que presentaron contaminación, se hallaron géneros de bacterias como *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Serratia*, que son potenciales para producir ETA (Caro-Hernández & Tobar, 2020).

El estudio de García (2015) que analiza la calidad microbiológica de superficies de comedores populares de la Región Tacna, encontró que las muestras recolectadas de superficies vivas, el 10% de las muestras no cumplían con los valores microbiológicos de coliformes totales usando como referencia a la normativa peruana. Además, se realizó el análisis de *E. coli*, donde el 5% de las muestras no cumplían con los límites microbiológicos. A diferencia de (Caro-Hernández & Tobar, 2020), este estudio no aplicó alguna charla o programa de capacitación personal sobre higiene aplicada a alimentos, pero si recomienda su uso. En ambos casos presentaron un porcentaje de incumplimiento para superficies vivas. Sin embargo, para el caso del presente estudio se reporta que la totalidad de las superficies vivas cumplen con la normativa MINSA, por lo tanto, la ausencia de coliformes totales/*E. coli* evidencia el cumplimiento del procedimiento de lavado y desinfección de manos que disponen los locales trabajados.

### 3.2.2 *Staphylococcus aureus*

La presencia de *S. aureus* en superficies vivas también es indicativo de prácticas deficientes de higiene por parte de los manipuladores. En la tabla 4 se puede observar que el 100% de las muestras cumplen el nivel permitido para *S. aureus*. Reportándose como < 100 UFC/manos (Ver anexo F).

**Tabla 4. Análisis estadístico de microorganismos indicadores de calidad para superficies vivas: *Staphylococcus aureus*.**

<b>Superficies vivas</b>	<b>Microorganismos indicadores</b>	<b>Recuentos Min - Máx</b>	<b>% Cumplimiento MINSA</b>	<b>Límite Permitido</b>
Manos	<i>S. aureus</i>	0 - 0	100%	<100 UFC/manos

Un estudio de Arroba & Anabel (2018), analizaron superficies vivas para la determinación de *S. aureus* de un mercado de la provincia de Pichincha, Ecuador, bajo los mismos criterios de la normativa peruana. Se obtuvo que sólo el 15% de las muestras para *S. aureus* cumplieron con los límites permitidos. Además, se menciona la aplicación de una capacitación sobre higiene orientada a la preparación de alimentos y tras un segundo muestreo, el 40% de las superficies vivas cumplieron con el límite permitido. La capacitación sobre buenas prácticas de higiene es importante y si bien sigue siendo un porcentaje bajo de cumplimiento (40%), la disminución de contaminación bacteriana es notable en comparación con el primer muestreo que realizaron.

El estudio de Herrera & Toribio (2012), centrado en el análisis de superficies de un mercado de comida de Cuzco, Perú, concluye que del porcentaje total de *S. aureus* para superficies vivas de los locales analizados, el 37.8% cumple con los criterios microbiológicos. El porcentaje de cumplimiento es similar entre los estudios mencionados. Esto puede deberse a la contaminación producida por falta de higiene del personal, que constituye un problema constante en los mercados que expenden comida. Sin embargo, con la aplicación de un procedimiento estandarizado de limpieza es posible evitar este tipo de problemas, garantizando la seguridad e inocuidad alimentaria. Por lo que, a diferencia de estos estudios referenciados, la ausencia de este microorganismo en el presente estudio evidencia el cumplimiento del proceso de lavado de manos de manera correcta por parte de los manipuladores de alimentos (Anexo E).

## 4. Conclusiones y recomendaciones

### 4.1 Conclusiones

- Del total de superficies inertes analizadas en contacto con los alimentos, el 100% cumplió con los límites permitidos para *E. coli*, mientras que el 85% cumplió con los límites aceptables para coliformes totales, en base a la normativa MINSA RM N.º 461-2007.
- El porcentaje total de superficies inertes que no cumplió con los niveles permitidos para coliformes totales fue del 15%, siendo el 8% para tablas de picar, 6% para cuchillos y 1% para ollas, de acuerdo a la normativa MINSA RM N.º 461-2007.
- La totalidad de las superficies vivas analizadas en contacto con los alimentos cumplió con los parámetros microbiológicos para coliformes totales, *E. coli* y *S. aureus* establecidos en la normativa MINSA RM N.º 461-2007.
- Los resultados evidencian un menor cumplimiento de los procedimientos de limpieza y desinfección para los utensilios manuales, mientras que para las superficies vivas el cumplimiento fue total, teniendo en consideración que el objetivo de los POE es implementar buenas prácticas de higiene y asegurar la inocuidad de los alimentos.

### 4.2 Recomendaciones

- Se recomienda a las autoridades del mercado realizar con mayor frecuencia inspecciones y controles de las actividades relacionadas con la preparación, manipulación y conservación de los productos alimenticios y utensilios, tanto previa elaboración como al final de cada jornada laboral.
- Mejorar la aplicación de los procedimientos de limpieza y desinfección de superficies en contacto con los alimentos por parte de los preparadores de comida y/o alimentos.

## 5. Referencias

- 3M. (2015). Placas Petrifilm™ para recuento de *E. coli*/Coliformes. Guía de interpretación. Estados Unidos. <https://multimedia.3m.com/mws/media/1624098O/3m-petrifilm-placas-e-coli-ec-guia-de-interpretacion.pdf>
- 3M. (2021). Sistema Staph Express. Estados Unidos. [https://www.bioser.com/wp-content/uploads/2022/05/IN\\_Discos-confirmacion-Petrifilm-Staph.pdf](https://www.bioser.com/wp-content/uploads/2022/05/IN_Discos-confirmacion-Petrifilm-Staph.pdf)
- Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M. F., & Di Ilio, C. (2013). Escherichia coli in Europe: an overview. *International journal of environmental research and public health*, 10(12), 6235–6254. <https://doi.org/10.3390/ijerph10126235>
- ARCSA. (2015). Manual de prácticas correctas de higiene y manipulación de alimentos en restaurantes/cafeeterías. Ecuador. [https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/08/IE-E.2.2-EST\\_42-A1-Manual-de-Practicas-Correctas-de-Higiene.pdf](https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2015/08/IE-E.2.2-EST_42-A1-Manual-de-Practicas-Correctas-de-Higiene.pdf)
- ARCSA. (2022). Instructivo Externo para la Evaluación de Establecimientos de Alimentación Colectiva. Obtenido de <https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2022/11/IE-E.2.2-ET42-A2Instructivo-Externo-Para-la-Evaluacion-de-Establecimientos-De-Alimentacion-Colectiva.pdf>
- Arroba, V., & Anabel, M. (2018). Diagnóstico microbiológico en base a la norma MINSA 461–2007 en el área de comidas preparadas del mercado Santa Clara del cantón Quito, provincia de Pichincha. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/16720>
- Bohinc, K., Dražić, G., Abram, A., Jevšnik, M., Jeršek, B., Nipič, D., ... & Raspor, P. (2016). Metal surface characteristics dictate bacterial adhesion capacity. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 68, 39-46.
- Caicedo Hoyos, B. R. (2022). Calidad microbiológica de verduras semiprocesadas y condiciones sanitarias de los puestos de expendio en mercados de abasto de la ciudad de Chachapoyas.
- Caro-Hernández, P. A., & Tobar, J. A. (2020). Análisis microbiológico de superficies en

contacto con alimentos. *Entramado*, 16(1), 240-249.

Carrasco, Z., Renato, I., & Lozano, C. (2017). *Enfermedades transmitidas por los alimentos: Una mirada puntual para el personal de salud*. 37(3), 95-104.

Escobedo López, A., Meneses Sánchez, M., & Castro Lino, A. (2016). Estudio microbiológico (cualitativo y cuantitativo) de superficies inertes que están en contacto con la preparación de alimentos en cafeterías de una universidad pública. *Revista Electrónica Sobre Cuerpos Académicos Y Grupos De Investigación*, 3(6). Recuperado a partir de <https://cagi.org.mx/index.php/CAGI/article/view/112>

Fernández, S., Marcía, J., Bu, J., Baca, Y., Chavez, V., Montoya, H., & Ore, F. (2021). Enfermedades transmitidas por Alimentos (Etas); Una Alerta para el consumidor. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(2), 2284-2298.

Fink, R., Okanovič, D., Dražič, G., Abram, A., Oder, M., Jevšnik, M., & Bohinc, K. (2017). Bacterial adhesion capacity on food service contact surfaces. *International journal of environmental health research*, 27(3), 169–178. <https://doi.org/10.1080/09603123.2017.1310188>

Flores, E. (2015). *Control microbiológico de superficies inertes en los comedores del Programa de Complementación Alimentaria del C. H. Alfonso Ugarte del Distrito de Gregorio Albarracín Lanchipa, de la Provincia de Tacna* [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Obtenido de: [http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/1925/661\\_2015\\_flores\\_contrado\\_er\\_faci\\_biologia\\_microbiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/1925/661_2015_flores_contrado_er_faci_biologia_microbiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

Flores Huamán, A. M. (2021). Implementación de procedimientos y formatos básicos de los principios generales de higiene, en un restaurante del Cercado de Lima, para su participación en el programa de certificación anual de “Restaurantes saludables”.

García, F. (2015). *Calidad microbiológica de superficies vivas e inertes en contacto con los alimentos de los comedores populares del distrito de ciudad Nueva, Región Tacna* [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Obtenido de: [http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/1921/611\\_2015\\_garcia\\_iq](http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/1921/611_2015_garcia_iq)

uise\_fn\_faci\_biologia\_microbiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- García-Ortiz, V. R., Benítez-Rocha, G., Martínez-Pacheco, M., Velázquez-Becerra, C., García-Ortiz, V. R., Benítez-Rocha, G., Martínez-Pacheco, M., & Velázquez-Becerra, C. (2018). Preservadores maderables y exudados microbianos con actividad antagonista contra agentes biológicos deletéreos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 56–78. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1704-2>
- Gómez, D., Lavayén, S., Nario, F., Piquin, A., & Zotta, C. M. (2011). Detección de microorganismos potencialmente patógenos en hogares de Mar del Plata. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 45(3), 441–445. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-29572011000300005#:~:text=Se incluyen%2C entre otros%2C paños,están siempre contaminados y húmedos.](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572011000300005#:~:text=Se%20incluyen%20entre%20otros%20paños,están%20siempre%20contaminados%20y%20húmedos.)
- Griffith, C. (2016). Surface Sampling and the Detection of Contamination. *Handbook of Hygiene Control in the Food Industry*, 673–696. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100155-4.00044-3>
- Guambi, D., Diaz, G., Marín, I., & Antamba, E. (2022). La potencialidad de las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA'S) en los conceptos y estilos culinarios: Una Revisión. *FACSALUD-UNEMI*, 6(11),66-75. <https://doi.org/10.29076/issn.2602-8360vol6iss11.2022pp66-75p>
- Guimarães, B. S., Ferreira, R. S., & Soares, L. S. (2018). Perfil microbiológico de utensilios em unidade de alimentação e nutrição comercial e institucional de Salvador, BA. *Higiene Alimentar*, 32(284/285), 36-40.
- Hernández Rodríguez, M. (2022). *Tratado de Nutrición*. Ediciones Diaz de Santos S.A.
- Herrera, A., & Toribio, J. (2012). Evaluación de la calidad higiénico sanitaria de superficies en los puestos dedicados al expendio de alimentos y bebidas de consumo inmediato del mercado" San Pedro" y propuesta de un manual de normas y procedimientos microbiológicos para implementar el área de control de calidad de



la Municipalidad del Cusco. (Tesis de pregrado, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco).

Ismail, R., Aviat, F., Michel, V., Le Bayon, I., Gay-Perret, P., Kutnik, M., & Fédérighi, M. (2013). Methods for recovering microorganisms from solid surfaces used in the food industry: a review of the literature. *International journal of environmental research and public health*, 10(11), 6169-6183.

Jiménez Herráez, G. N. (2016). *Evaluación de la calidad microbiológica en superficies inertes en las picanterías de la parroquia el Batán de la ciudad de Cuenca* (Tesis de Maestría, Universidad del Azuay).

Lacaze, B. F. E., & Giubi, V. M. F. (2014). Contaminación bacteriana de manos y guantes de manipuladores de alimentos de la vía pública de Asunción. *Ciencia e Investigación Médico Estudiantil Latinoamericana*, 19(2).

Larrea-Murrell, J. A., Rojas-Badía, M. M., Romeu-Álvarez, B., Rojas-Hernández, N. M., & Heydrich-Pérez, M. (2013). Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 44(3), 24-34.

Ministerio de Salud Pública. (2022). ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR AGUA Y ALIMENTOS, FIEBRE TIFOIDEA Y PARATIFOIDEA Ecuador 2022 SE 1-52. SUBSECRETARIA NACIONAL DE VIGILANCIA, PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA SALUD PÚBLICA. Pichincha: Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica.

Ministerio de Salud y Protección Social de Colombia (2020). Calidad e inocuidad de los alimentos. Obtenido de [www.minsalud.gov.co](http://www.minsalud.gov.co): <https://www.minsalud.gov.co/salud/Paginas/inocuidad-alimentos.aspx>

MINSA (2007). Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en contacto con Alimentos y Bebidas. Resolución Ministerial N° 461-2007/MINSA. [https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas\\_Legales/alimentos/R\\_M\\_461\\_2007.pdf](https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/R_M_461_2007.pdf)

- Mohammad, G. A., & Al-Tae, S. M. (2018). Comparison of various types of Cutting boards in bacterial contamination. *Journal of College of Education for Pure Sciences*, 4, 301-308.
- Nevárez, V. (2007). Planes de muestreo en Microbiología, en seminario 3M Microbiología en Alimentos; planeación, monitoreo y control. Monterrey.
- OMS. Organización Mundial de la Salud. (2020). Suiza. Inocuidad de los Alimentos. [www.who.int: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety)
- OMS. Organización Mundial de la Salud (2023). Día Mundial de la Inocuidad de los Alimentos. Suiza. <https://www.who.int/campaigns/world-food-safety-day/2023>.
- OMS. Organización Mundial de la Salud (2023). Estimación de la carga mundial de enfermedades de transmisión alimentaria. Suiza. <https://www.who.int/es/activities/estimating-the-burden-of-foodborne-diseases>.
- Pena, S. J. (2018). *Calidad microbiológica de los alimentos y del ambiente del comedor de la Universidad Nacional de Río Cuarto*. (Tesis de Grado, Universidad Nacional de Río Cuarto).
- Ríos-Castillo, A. G., Ripolles-Ávila, C., & Rodríguez-Jerez, J. J. (2020). Evaluation of bacterial population using multiple sampling methods and the identification of bacteria detected on supermarket food contact surfaces. *Food Control*, 119, [107471]. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107471>
- Saá Cruz, M. (2014). *Guía para el estudio de microbiología de alimentos*. Cuenca, Ecuador.
- Sotelo, Adriana Benítez, Martínez, Cecilia, & Sánchez, Susana. (2019). Características epidemiológicas y clínicas de los brotes de Enfermedades Transmitidas por Alimentos. Paraguay 2015 - 2016. *Revista de salud pública del Paraguay*, 9(1), 33-40. <https://doi.org/10.18004/rspp.2019.junio.33-40>
- Suescún-Carrero, S., & Ávila-Panche, S. (2017). Evaluación microbiológica en programas de alimentación escolar en instituciones educativas en el Departamento de Boyacá-

Colombia. Nova, 15(28), 93-98.

Téllez, S. (2010). *Los Biofilms y su repercusión en la Industria Alimentaria*. <https://www.visavet.es/es/articulos/biofilms-repercusion-industria-alimentaria.php#:~:text=Además de agua y de,et al.%2C 2005>.

FDA. The Food and Drug Administration. (2020). Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. United States. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-chapter-4-enumeration-escherichia-coli-and-coliform-bacteria>

Torrens, R., Argilagos, B., Cabrera, S., Valdés, B., Sáez, M., & Viera, G. (2015). Las enfermedades transmitidas por alimentos, un problema sanitario que hereda e incrementa el nuevo milenio. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 16(8), 28.

Ulloa, J. O., Arteaga, E. M. C., Avilés, A. M. O., & Moscoso, S. P. D. (2020). Revisión sistemática de estudios sobre inocuidad alimentaria en Cuenca, Ecuador, período 1981-2017. *Segurança Alimentar e Nutricional*, 27, e020024-e020024.

Yungán Tacuri, K. L. (2017). Evaluación higiénico–sanitaria de la Quesera Artesanal COD ubicada en la parroquia Cajabamba del cantón Colta, provincia de Chimborazo. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Zendejas-Manzo, G. S., Avalos-Flores, H., & Soto-Padilla, M. Y. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. *Revista Biomédica*, 25(3), 129-143.

Zúñiga Carrasco, I. R., & Caro Lozano, J. (2017). Enfermedades transmitidas por los alimentos: una mirada puntual para el personal de salud. *Enfermedades infecciosas y Microbiología*, 37(3), 95-104.

## 6. Anexos

### Anexo A. Media del recuento microbiológico de superficies inertes para coliformes totales.

Media de recuento microbiológico de coliformes totales de 3 días de muestreo					
	Tabla	Cuchillo	Plato	Olla	Pozuelo
	Superficie Regular	Superficie Irregular	Superficie Irregular	Superficie Irregular	Superficie Irregular
	Unidades: (UFC/ 100 cm <sup>2</sup> )	Unidades: (UFC/ 2 cuchillos)	Unidades: (UFC/ Plato)	Unidades: (UFC/ Olla)	Unidades: (UFC/ Pozuelo)
Local 1	0,31	109,16	0	0	0
Local 2	1,05	116,83	0	0	0
Local 3	0,71	94,66	0	0	0
Local 4	0,3	105,16	0	0	0
Local 5	0,41	0	0	0	0
Local 6	0,71	0	0	0	0
Local 7	0,87	0	0	0	0
Local 8	1,46	0	0	0	0
Local 9	0	0	0	0	0
Local 10	1,43	0	0	13,16	0
Local 11	1,9	0	0	0	0
Local 12	0	0	0	0	0
Local 13	0,03	0	0	0	0
Local 14	1,38	0	0	0	0
Local 15	1,87	0	0	0	0
Local 16	0,1	0	0	0	0
Local 17	0,01	0	0	0	0
Local 18	2,91	160	0	0	0
Local 19	2,7	318,33	0	0	0
Local 20	0,45	0	0	0	0

## Anexo B. Resultados del recuento microbiológico de coliformes totales para superficies inertes.

Media de recuento microbiológico de coliformes totales						
		Tabla	Cuchillo	Plato	Olla	Pozuelo
		Superficie Regular	Superficie Irregular	Superficie Irregular	Superficie Irregular	Superficie Irregular
		Unidades: (UFC/ 100 cm2)	Unidades: (UFC/ 2 cuchillos)	Unidades: (UFC/ Plato)	Unidades: (UFC/ Olla)	Unidades: (UFC/ Pozuelo)
Local 1	Día 1	0,3	182,5	0	0	0
	Día 2	0,35	0	0	0	0
	Día 3	0,3	145	0	0	0
Local 2	Día 1	1,65	140	0	0	0
	Día 2	0	91,5	0	0	0
	Día 3	1,5	119	0	0	0
Local 3	Día 1	1,35	90,5	0	0	0
	Día 2	0,55	76,5	0	0	0
	Día 3	0,25	117,5	0	0	0
Local 4	Día 1	0,9	93	0	0	0
	Día 2	0	60	0	0	0
	Día 3	0	162,5	0	0	0
Local 5	Día 1	0,2	0	0	0	0
	Día 2	0,2	0	0	0	0
	Día 3	0,85	0	0	0	0
Local 6	Día 1	0,3	0	0	0	0
	Día 2	0	0	0	0	0
	Día 3	1,85	0	0	0	0
Local 7	Día 1	1,45	0	0	0	0
	Día 2	0	0	0	0	0
	Día 3	1,18	0	0	0	0
Local 8	Día 1	0,9	0	0	0	0
	Día 2	1,85	0	0	0	0
	Día 3	1,65	0	0	0	0
Local 9	Día 1	0	0	0	0	0
	Día 2	0	0	0	0	0
	Día 3	0	0	0	0	0
Local 10	Día 1	1,7	0	0	13	0
	Día 2	0,55	0	0	11,5	0
	Día 3	2,05	0	0	15	0
Local 11	Día 1	4,15	0	0	0	0
	Día 2	0	0	0	0	0
	Día 3	1,56	0	0	0	0
Local 12	Día 1	0	0	0	0	0
	Día 2	0	0	0	0	0
	Día 3	0	0	0	0	0
Local 13	Día 1	0	0	0	0	0
	Día 2	0	0	0	0	0
	Día 3	0,1	0	0	0	0
Local 14	Día 1	0	0	0	0	0
	Día 2	1,9	0	0	0	0
	Día 3	2,25	0	0	0	0
Local 15	Día 1	3,58	0	0	0	0
	Día 2	2,05	0	0	0	0
	Día 3	0	0	0	0	0
Local 16	Día 1	0,25	0	0	0	0
	Día 2	0,05	0	0	0	0
	Día 3	0	0	0	0	0
Local 17	Día 1	0,05	0	0	0	0
	Día 2	0	0	0	0	0
	Día 3	0	0	0	0	0
Local 18	Día 1	2,8	420	0	0	0
	Día 2	3,3	120	0	0	0
	Día 3	2,65	0	0	0	0
Local 19	Día 1	2,4	315	0	0	0
	Día 2	2,4	295	0	0	0
	Día 3	3,3	345	0	0	0
Local 20	Día 1	0,1	0	0	0	0
	Día 2	0,35	0	0	0	0
	Día 3	0,9	0	0	0	0

## Anexo C. Media del recuento microbiológico de *Escherichia coli* para superficies inertes.

Media de recuento microbiológico de <i>Escherichia coli</i> de 3 días de muestreo					
	Tabla	Cuchillo	Plato	Olla	Pozuelo
	Superficie Regular	Superficie Irregular	Superficie Irregular	Superficie Irregular	Superficie Irregular
	Unidades: (UFC/ 100 cm2)	Unidades: (UFC/ 2 cuchillos)	Unidades: (UFC/ Plato)	Unidades: (UFC/ Olla)	Unidades: (UFC/ Pozuelo)
Local 1	0	0	0	0	0
Local 2	0	0	0	0	0
Local 3	0	0	0	0	0
Local 4	0	0	0	0	0
Local 5	0	0	0	0	0
Local 6	0	0	0	0	0
Local 7	0	0	0	0	0
Local 8	0	0	0	0	0
Local 9	0	0	0	0	0
Local 10	0	0	0	0	0
Local 11	0	0	0	0	0
Local 12	0	0	0	0	0
Local 13	0	0	0	0	0
Local 14	0	0	0	0	0
Local 15	0	0	0	0	0
Local 16	0	0	0	0	0
Local 17	0	0	0	0	0
Local 18	0	0	0	0	0
Local 19	0	0	0	0	0
Local 20	0	0	0	0	0

## Anexo D. Resultados del recuento microbiológico de *Escherichia coli* para superficies inertes.

Media de recuento microbiológico de <i>Escherichia Coli</i>						
Abreviaciones: A/(100 cm) <sup>2</sup> ; Ausencia/ (100 cm) <sup>2</sup> . A/S; Ausencia/superficie específica (cuchillo, plato, olla, pozuolo)						
		Tabla	Cuchillo	Plato	Olla	Pozuelo
		Superficie Regular	Superficie Irregular	Superficie Irregular	Superficie Irregular	Superficie Irregular
		Unidades: (UFC/ 100 cm <sup>2</sup> )	Unidades: (UFC/ 2 cuchillos)	Unidades: (UFC/ Plato)	Unidades: (UFC/ Olla)	Unidades: (UFC/ Pozuelo)
Local 1	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 2	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 3	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 4	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 5	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 6	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 7	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 8	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 9	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 10	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 11	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 12	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 13	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 14	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 15	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 16	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 17	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 18	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 19	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
Local 20	Día 1	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 2	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S
	Día 3	A / (100 cm) <sup>2</sup>	A/S	A/S	A/S	A/S

**Anexo E. Media del recuento microbiológico de *Staphylococcus aureus*, coliformes totales y *Escherichia coli* para superficies vivas.**

<b>Media de recuento microbiológico de superficies vivas de 3 días de muestreo</b>			
	<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b>Coliformes Totales</b>	<b><i>Escherichia coli</i></b>
	Unidades: (UFC / manos)	Unidades: (UFC / manos)	Unidades: (UFC / manos)
<b>Local 1</b>	0	0	0
<b>Local 2</b>	0	0	0
<b>Local 3</b>	0	0	0
<b>Local 4</b>	0	0	0
<b>Local 5</b>	0	0	0
<b>Local 6</b>	0	0	0
<b>Local 7</b>	0	0	0
<b>Local 8</b>	0	0	0
<b>Local 9</b>	0	0	0
<b>Local 10</b>	0	0	0



## Anexo F. Resultados del recuento microbiológico de superficies vivas.

Media de recuento microbiológico de superficies vivas				
		<i>Staphylococcus aureus</i>	Coliformes Totales	<i>Escherichia coli</i>
		Unidades: (UFC/manos)	Unidades: (UFC/manos)	Unidades: (UFC/manos)
Local 1	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
Local 2	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
Local 3	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
Local 4	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
Local 5	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
Local 6	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
Local 7	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
Local 8	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
Local 9	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
Local 10	Día 1	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 2	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos
	Día 3	< 100	< 100	Ausencia/manos