

Análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos *

Paola Andrea Caro-Hernández

Docente investigadora Universidad Libre Seccional Cali, Cali – Colombia

paolaa.caro@unilibre.edu.co

 <https://orcid.org/0000-0003-4362-0405>

Jorge Armando Tobar

Universidad Libre Seccional Cali, Cali – Colombia

jorge-mejiat@unilibre.edu.co

 <https://orcid.org/0000-0002-7853-5596>

RESUMEN

De acuerdo a las estadísticas en Colombia los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos se han incrementado, encontrándose los restaurantes e instituciones educativas dentro de los lugares más implicados. El objetivo principal de este estudio fue evaluar la inocuidad microbiana de las superficies vivas e inertes en contacto con alimentos en restaurantes formales e informales y puestos de comida ambulante cercanos a un campus universitario. En total se seleccionaron 41 superficies para el análisis de bacterias mesófilas aerobias y Coliformes totales, que fueron posteriormente identificadas mediante pruebas bioquímicas rápidas. Los resultados evidenciaron contaminación cruzada, con altos porcentajes en bacterias mesófilas aerobias, y aunque la mayoría de los recuentos de coliformes totales se encontraron dentro del límite permisible, la identificación bacteriana demostró la presencia de varios géneros de la familia *Enterobacteriaceae*. Además, se demostró que la capacitación en manipulación higiénica de alimentos es un buen instrumento para minimizar los recuentos de bacterias en superficies.

PALABRAS CLAVE

Superficies, enfermedades transmitidas por alimentos, inocuidad microbiana, higiene, alimento, universidades

Microbiological analysis of surfaces in contact with food

ABSTRACT

In Colombia, foodborne illnesses have increased, being the restaurants and educational institutions within the most involved places. The main objective of this study was to evaluate the microbial safety of living and inert surfaces in contact with food in formal and informal restaurants and street food stalls near a university campus. In total, 41 surfaces were selected for the analysis of aerobic mesophilic bacteria and total Coliform, which were subsequently identified by rapid biochemical tests. The results showed cross contamination, with high percentages in aerobic mesophilic bacteria, and although most total coliform counts are within the allowable limit, bacterial identification demonstrates the presence of several genera of the *Enterobacteriaceae* family. In addition, training in hygienic food modifications was shown to be a good instrument to minimize bacterial counts on surfaces.

KEYWORDS

Surfaces, foodborne diseases, microbial safety, hygiene, food, universities

Recibido: 20/08/2019 Aceptado: 20/12/2019

* Artículo original resultado del proyecto "Programa de higiene y análisis microbiológico de ambientes y superficies de locaciones formales e informales de preparación y venta de alimentos" financiado por la Universidad Libre Seccional Cali, Cali - Colombia Este es un artículo Open Access bajo la licencia BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>)

Cómo citar este artículo: CARO-HERNÁNDEZ, Paola Andrea y TOBAR, Jorge Armando. Análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos. En: Entramado. Enero - Junio, 2020 vol. 16, no. 1, p. 240-249 <https://dx.doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.1.6126>



Análise microbiológica de superficies de contato com alimentos

RESUMO

De acordo com as estatísticas na Colômbia, os surtos de doenças de origem alimentar aumentaram, estando os restaurantes e instituições de ensino entre os mais envolvidos. O principal objetivo deste estudo foi avaliar a segurança microbiana de superfícies de contato com alimentos vivos e inertes em restaurantes formais e informais e barracas de comida de rua próximas a um campus universitário. Foram selecionadas 41 superfícies para análise de bactérias aeróbias mesófilas e coliformes totais, que foram posteriormente identificadas através de testes bioquímicos rápidos. Os resultados mostraram contaminação cruzada, com altas percentagens de bactérias aeróbias mesófilas, e embora a maioria das contagens totais de coliformes estivesse dentro do limite permitido, a identificação bacteriana demonstrou a presença de vários gêneros da família *Enterobacteriaceae*. Além disso, o treinamento no manuseio higiênico de alimentos demonstrou ser uma boa ferramenta para minimizar a contagem de bactérias na superfície.

PALAVRAS-CHAVE

Superfícies, doenças de origem alimentar, segurança microbiana, higiene, alimentos, universidades

I. Introducción

Dos mil millones de casos de diarrea se presentan en el mundo anualmente y se cree que aproximadamente el 70% de estas se originan por la ingesta de aguas y alimentos contaminados con microorganismos o sus toxinas, convirtiendo a las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) en uno de los mayores problemas de salud pública en todo el mundo. De acuerdo a los balances presentados por el Instituto Nacional de Salud, a través del Sistema de Vigilancia en Salud Pública SIVIGILA, en Colombia al final del año 2018, se presentaron cerca de 881 brotes de ETAs, lo que ha marcado un incremento del 2.5 %, y el Valle del Cauca con 124 brotes fue el departamento con más reportes. Así mismo, se indica que los restaurantes y centros educativos, luego de los hogares, fueron los lugares con más brotes (Instituto Nacional de Salud, 2018). El riesgo de la transmisión de patógenos aumenta, cuando los controles en las prácticas de higiene en la manipulación de alimentos son insuficientes; a esto se suma el incremento, en las últimas décadas, de brotes de origen alimentario por microorganismos emergentes y cepas multirresistentes (White, 2002; Jansen, 2019). Las superficies en contacto con los alimentos, sean vivas o inertes, son uno de los factores de mayor riesgo en la transferencia de microorganismos patógenos y oportunistas (Scott, 1990; Fink, 2017; Todd, 2010).

Las bacterias que se encuentran sobre la piel pueden adaptarse de tal manera que resisten al lavado con jabón, detergentes, radiación UV y baja disponibilidad de humedad (Zapka *et al.*, 2011). En las manos podemos encontrar más de 150 especies diferentes de bacterias, siendo los géneros *Propionibacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, y *Lactobacillus* los que se aíslan con mayor frecuencia (Fierer, Hamady, Lauber y Knight 2008). Incluso se

ha demostrado que bacterias involucradas en ETAs pueden aumentar su patogenicidad coexistiendo con la microbiota comensal de la piel (Boldock, 2018). Por tanto, las manos son un excelente vehículo para la transferencia de agentes potencialmente patógenos a los alimentos que consumimos (Cogen, Nizet y Gallo, 2008). Por otro lado, también se ha comprobado que el aire proveniente de sistemas de ventilación no natural (Daza, Martínez y Caro-Hernández, 2015), la ropa y los utensilios son fuentes de transmisión de microorganismos (Scott y Bloomfield, 1990) (Mkhungo, Oyedeji y Ijabadeniyi, 2018). Se conoce con certeza que algunas bacterias involucradas en las ETAs, pueden persistir por periodos prolongado sobre superficies inertes en contacto con alimentos (Pometto III and Demirci, 2015; Fink *et al.*, 2017). Inclusive, géneros como *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas* y *Serratia*, pueden crecer adheridas a superficies de acero inoxidable en ambientes controlados (Teh *et al.*, 2011).

El problema es más grave cuando se trata de ambientes no controlados, como es el caso de restaurantes caseros (Langiano *et al.*, 2012) y puestos informales de comida callejera. Asogwa (2015) analizó 63 puestos de comida ambulante en las calles de Enugu Nigeria, pudiendo observar que en el 100% de los utensilios analizados se evidenciaba la presencia *Staphylococcus aureus*, al igual que en las monedas manipuladas por los mismos vendedores, las cuales además presentaban Coliformes (Asogwa, 2015). En países latinoamericanos en vía de desarrollo, esta problemática también persiste, estudios realizados en restaurantes caseros y restaurantes informales cercanos a centros comunitarios, educativos y otros centros públicos han evidenciado la falta de higiene en la manipulación de alimentos. Los resultados de estos estudios han demostrado que, tanto en alimentos como en las superficies inertes en contacto con estos, se

dan recuentos de Coliformes totales por fuera de los límites establecidos (Velásquez, 2011; Nexticapa, 2012).

Colombia no es la excepción, Flórez, Rincón, Garzón, Vargas y Enríquez (2008), analizaron 113 establecimientos de preparación y venta de comida callejera, mostrando que el 37.7% de los establecimientos no contaban con los planes de saneamiento adecuado, que el 17% de los manipuladores de alimentos manejaban simultáneamente dinero y alimentos, y de estos el 15.2% refirieron no lavarse las manos cuando manipulaban dinero (Flórez, 2008). Un estudio similar publicado recientemente, en el que se evaluó la calidad microbiológica de utensilios de cocina y manos de manipuladores de alimentos, de los comedores de las Instituciones educativas de más de 100 municipios del departamento de Boyacá, entre los años 2013 a 2015; dejó en evidencia las inadecuadas prácticas de limpieza y desinfección de estos establecimientos. Los análisis mostraron que tablas de picar, cuchillos, cucharas, mesones y las manos de manipuladores de alimentos, presentaban recuentos de Mesófilos Aerobios, Coliformes totales y Coliformes fecales por fuera de los límites permisibles, por lo que se pudo demostrar la presencia de contaminación fecal. Además, evidenciaron la presencia de *Estafilococos coagulasa* positiva en 3,1% de las muestras, (Suescún-Carrero y Avila-Panche, 2017). Así mismo, en un estudio realizado por Campuzano, Mejía, Madero y Pabón (2015) en el cual se determinó la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados y vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C., mostró además de los grupos comúnmente reportados (Mesófilos aerobios y Coliformes totales), la presencia de esporas de *Clostridium sulfito reductores*. Estos resultados evidenciaron, la poca higiene en la manipulación de alimentos, y las inadecuadas condiciones de almacenamiento y conservación de estos; calificando de alto riesgo a la mayoría de establecimientos de venta ambulante (Campuzano, 2015)

Teniendo en cuenta lo anterior, el principal objetivo de este trabajo fue identificar y conocer el recuento de Bacterias Mesófilas Aerobios (BMA) y Coliformes Totales (CT) presentes en superficies vivas (SV) y superficies inertes (SI) de locaciones formales e informales de preparación y venta de alimentos, aledañas a una Facultad de Salud del Sur Occidente colombiano. El artículo expone de forma general las especificaciones que se tuvieron en cuenta para el análisis de resultados, comparando si existieron diferencias con relación al tipo de locación formal o informal, tipo de superficie inerte o viva, tipo de indicador bacteriano, o si existieron diferencias en cuanto la época de muestreo. Así mismo, presenta los resultados de la frecuencia de aislamiento de las bacterias identificadas. Posteriormente los resultados fueron comparados con estudios similares, para finalizar en la importancia y proyección que tienen este tipo de controles.

2. Metodología

Muestreo

Para realizar este trabajo de investigación, se escogió como área de estudio los restaurantes formales (denominados F) e informales y puestos ambulantes de comida (denominados IF) aledaños a un campus universitario, ubicado en el sur oeste de la ciudad de Cali, Colombia. En ambos tipos de locación se llevaron a cabo dos muestreos, el primero durante marzo de 2016 (F1 y IF1) y el segundo (F2 y IF2), luego de una charla de capacitación en manipulación higiénica de alimentos, en el mes de junio de 2016.

Teniendo en cuenta el riesgo de contaminación microbiológica, se seleccionaron como puntos de muestreo un total 23 superficies inertes (SI: utensilios de cocina, licuadoras, dispensadores, tablas de cortar, entre otras) y 18 manipuladores a los que se les realizó frotis de la superficie palmar, muestras denominadas en el estudio como superficies vivas (SV).

El muestreo se llevó a cabo mediante la técnica de arrastre con hisopo, empleando una plantilla de 100 cm² para superficies regulares y sobre toda la superficie cuando estas eran irregulares, como se describe en la Guía técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas (DIGESA, 2007). Para el análisis microbiológico de laboratorio las muestras fueron codificadas de acuerdo al tipo de superficie (Superficie Inerte: SI, Palma de las manos: SV) y restaurante en el que se encontraba el punto de muestreo (locaciones Formales: F o Informales IF)

Los tubos que contenían los hisopos con las muestras, fueron transportados a 4°C y mantenidos a esta temperatura hasta su análisis (tiempo no superior a 2 horas) en los laboratorios de Microbiología Ambiental de la Universidad Libre sede Santa Isabel en la ciudad de Cali.

Procesamiento de las muestras: aislamiento, recuento e identificación de bacterias

A cada una de las muestras se les realizó cuatro diluciones seriadas en base diez, empleando agua peptonada al 0,1%. Cada dilución fue sembrada por triplicado en agar Plate Count (PC), para el recuento de Bacterias Mesófilas Aerobios (BMA) y agar Violeta Cristal-Rojo neutro-Bilis-Lactosa (VRB) para el recuento de Coliformes Totales (CT), mediante la técnica de homogenización en masa por siembra en profundidad, descrita por la FDA (Food and Drug Administration, 1998). Posterior a una incubación de 24-48 h, a 36±2°C, se escogieron las cajas que presentaban entre 30 a 300 Unidades formadoras de Colonia (UFC). Los recuentos obtenidos fueron multiplicados por sus respectivos fac-

tores de dilución y los resultados fueron informados como recuento de UFC/100cm² en superficies regulares o UFC/superficie cuando se trató de superficies irregulares. En los casos donde no se presentó crecimiento, se informaron como recuentos menores al factor de dilución, de la dilución más concentrada. En los casos donde se presentaron recuentos incontables, se repitió el muestreo aumentando el número de diluciones.

En cada muestra se escogieron las colonias con morfologías diferentes y fueron aisladas mediante la siembra por agotamiento en agar Trypticase de Soya (TSA), Violeta cristal-Rojo neutro-Bilis-Dextrosa (VRBD). Su identificación se realizó mediante la técnica convencional, empleando para ello pruebas bioquímicas rápidas para entéricos (Enterosystem 18R®) y para Gram positivos (BD BBL Crystal TM).

Análisis de los resultados

Los resultados fueron analizados mediante la prueba de Chi cuadrado, comparando el porcentaje del número de superficies que cumplían o no con la norma para el recuento de UFC de BMA y CT, teniendo en cuenta los tipos de establecimientos y la época de muestreo.

En cuanto a la norma, en la mayoría de los casos según los métodos normalizados por organismos internacionales, en las superficies en contacto con bebidas y alimentos, el gru-

po indicador considerado es CT; con respecto a este grupo existen varias especificaciones de acuerdo al país. Por ejemplo, según la Norma Peruana, aprobada por la Resolución Ministerial 461-2007-MINSA, en las superficies inertes irregulares el límite es de <10 UFC/superficie, y de <1 UFC/cm² en superficies inertes regulares (DIGESA, 2007), mientras que en la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSAI-1994 el límite se encuentra en <200 UFC/cm² (Secretaría de Salud de México, 1994). En el presente estudio, se tomó como referencia la norma peruana para CT, sin embargo, esta norma no contempla el recuento de BMA, por lo cual para este grupo se tomó como referencia la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSAI-1994 que acepta un límite de <400 UFC/cm² (Secretaría de Salud de México, 1994).

3. Resultados

Recuento de Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) y Coliformes Totales (CT) en superficies inertes (SI)

El análisis estadístico de los resultados obtenidos tanto en restaurantes formales como informales evidenció (Ver Figura 1) que, en SI no existió una relación significativa entre las dos épocas de muestreo. El porcentaje del número de SI con BMA por fuera del límite, fue mayor en locaciones formales que en las informales, sobresaliendo los resultados del segundo muestreo, donde el 81% de los puntos

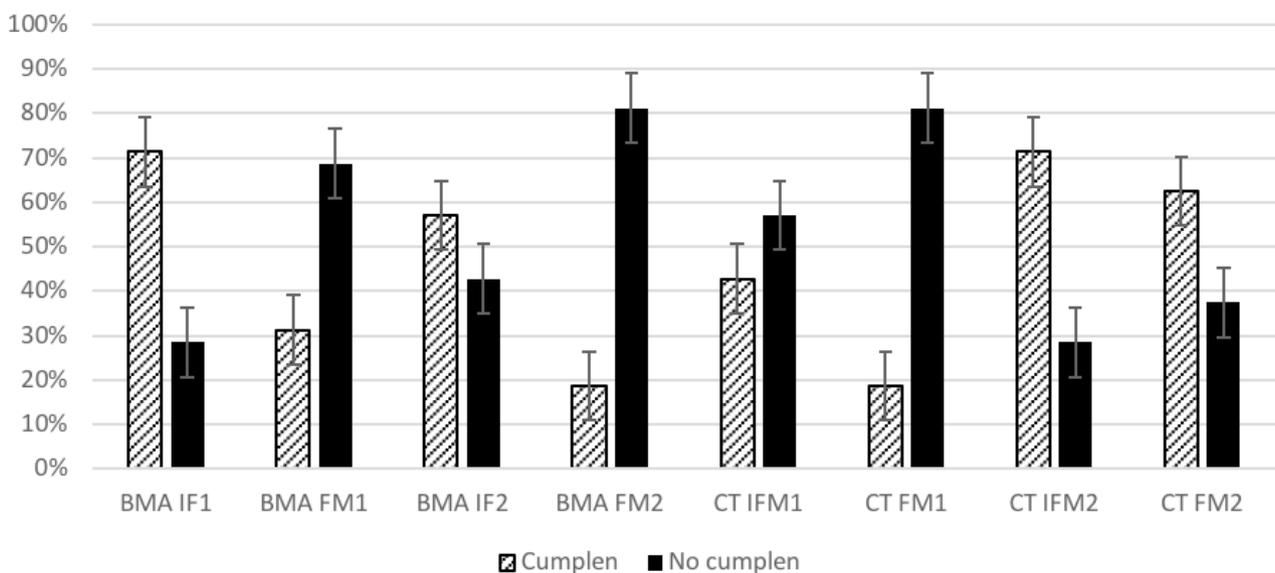


Figura 1. Porcentaje del número de SI que cumplen o no con los límites microbiológicos para Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) y Coliformes Totales (CT). Se tomó como referencia la norma mexicana para el recuento de BMA (<200 UFC/cm²) (Secretaría de Salud de México, 1994) y la norma peruana (DIGESA, 2007) para el recuento de CT en superficies inertes irregulares (<10 UFC/superficie), y en superficies inertes regulares (<1 UFC/cm²) de locaciones informales, muestreo 1 ó 2 (IFM1, IFM2) y locaciones formales, muestreo 1 ó 2 (FM1, FM2)

Fuente: Los autores

presentaron recuentos por encima del límite permitido según la norma (<400 UFC/ cm²). Comparando los resultados entre establecimientos, formales e informales, se observó que el tipo de establecimiento puede influir, y esta diferencia es significativa en los dos muestreos. Cabe destacar que la mayoría de recuentos por fuera del límite para BMA se presentaron en SI en contacto con alimentos crudos, como son la bandeja de amase para arepas, tablas de corte, recipiente plástico de almacenamiento de salchichas y superficies de preparación de alimentos. Además, la mayoría de superficies irregulares como el exprimidor de naranjas, dispensadores de bebidas y licuadora presentaron recuentos por encima de 10.000 UFC/superficie.

Los análisis para CT sobre SI, mostraron que hay diferencias significativas entre las dos épocas de muestreo en los establecimientos formales, observándose que, el porcentaje de número de superficies que no cumplen con los límites microbiológicos en la primera época de muestreo es mayor (71%), que en la segunda (38%).

Con respecto a las SI de establecimientos informales, se observaron diferencias, aunque no fueron significativas, siendo también en el segundo muestreo, mayor el porcentaje de superficies que cumplen con los límites. Si bien, no se observó diferencias significativas entre el tipo de estableci-

mientos, el porcentaje del número de SI de locaciones formales, con recuentos de CT fuera del límite microbiológico, es mayor que el de las informales, y fue notable la diferencia en la primera época de muestreo. Las superficies que, en las dos épocas de muestreo, presentaron recuentos de CT por fuera de los límites microbiológicos permitidos, fueron: exprimidor de naranjas, tabla de corte, superficie almacenamiento salchichas, plato "limpio" y una jarra dispensadora de bebidas.

Recuento de BMA y CT en superficies vivas (SV)

Las manos pueden albergar miles de microorganismos, convirtiéndose en un vehículo de contaminación cruzada para los alimentos con los que entren en contacto. En este tipo de superficies, al igual que en las SI, se tuvo en cuenta el porcentaje de superficies que cumplían o no las especificaciones del número de UFC para BMA, empleando como referencia la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSAI-1994 (Secretaría de Salud de México, 1994), que en SV admite un límite de <3 000 UFC/manos. Los resultados evidenciaron que no existe una relación significativa entre las épocas de muestreo o el tipo de establecimiento. Se observó que, tanto en establecimientos formales como informales, la mayoría de SV muestreadas cumplen con los límites para BMA (Ver Figura 2).

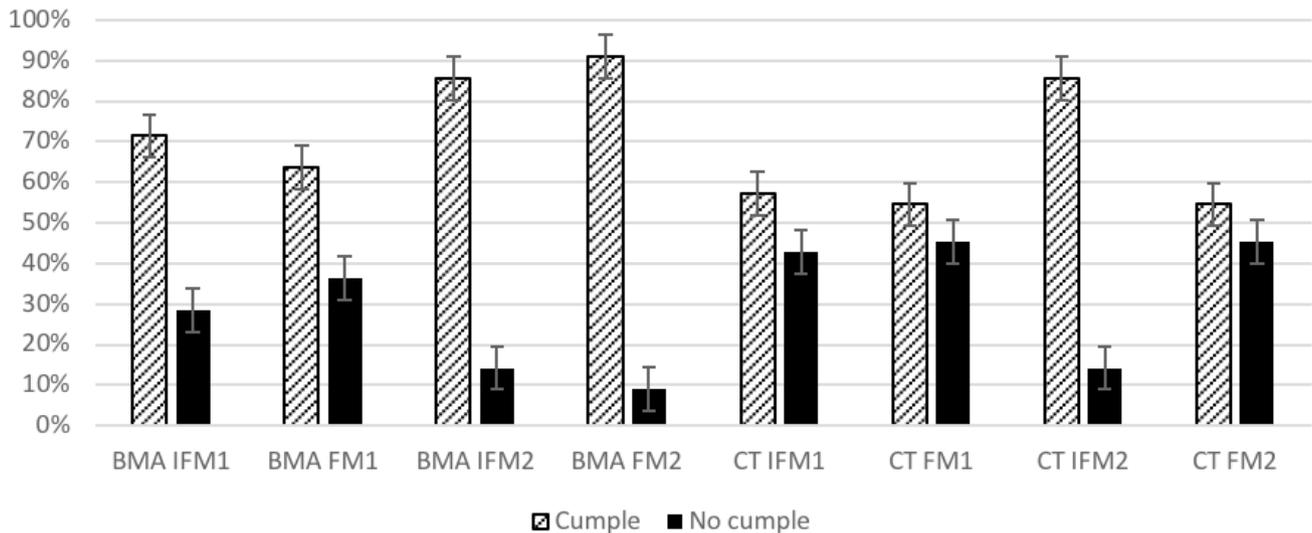


Figura 2. Porcentaje del número de SV que cumplen o no con los límites microbiológicos para BMA y CT. Par los límites microbiológicos se tomó como referencia la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSAI-1994 (Secretaría de Salud de México, 1994) para el recuento de BMA (<3 000 UFC/manos) y la norma peruana (DIGESA, 2007) para el recuento de CT (<100 UFC/mano) en locaciones informales, muestreo 1 ó 2 (IFM1, IFM2) y locaciones formales, muestreo 1 ó 2 (FM1, FM2)
Fuente: Los autores

Por otro lado, la norma peruana, permite un límite de CT en superficies vivas de <100 UFC/manos (DIGESA, 2007). Frente a este grupo, los resultados, evidenciaron que no hay relación significativa entre las épocas de muestreo, y en ambas fue mayor el porcentaje de manipuladores que se encontraban dentro de los límites permisibles, siendo notable los resultados en restaurantes informales en la segunda época de muestreo (86%) (Ver Figura 2).

Identificación bacteriana

A partir de los recuentos se aislaron las colonias con pigmentación y morfología macroscópica diferente, obteniéndose un total de 59 aislados, de los cuales 49 fueron Gram negativos y 10 Gram positivos. Mediante las pruebas bioquímicas rápidas se pudo obtener la identificación de 52 de los aislados (Tabla 1).

Los resultados de la identificación, evidenciaron la alta frecuencia de bacterias Gram negativas como *E. cloacae* (10 aislados), *E. agglomerans* (8 aislados), *K. pneumoniae* (8 aislados), *K. oxytoca* (7 aislados), *S. liquefaciens* (6 aislados) y bacterias Gram positivas como *M. kristinae* (4 aislados). Además, se puede observar que, aunque hay una mayor

frecuencia en SI, la variabilidad bacteriana es similar en los dos tipos de superficies. Sobresale la presencia con más frecuencia de *E. cloacae* y *K. pneumoniae* en SI y la presencia de la mayoría de bacterias Gram positivas en SV.

4. Discusión

En Colombia debido a la situación social y económica de sus habitantes, es común encontrar establecimientos informales como puestos ambulantes de comida o restaurantes caseros, cerca de centros universitarios, hospitales o entidades públicas. Aunque algunos de estos lugares, cuentan con los permisos para la preparación y venta de alimentos, la capacitación del personal en manipulación higiénica y los controles sobre ambientes y superficies son insuficientes. Este problema puede ser mayor, en ciudades como Cali, donde la temperatura oscila entre 28° a 32°C, temperatura óptima para el crecimiento de BMA, CT y patógenos, que pueden contaminar las superficies y llegar a los alimentos dañándolos o peor aún, causando las ETAs. Las BMA pueden encontrarse en cualquier superficie, en un ambiente con temperaturas entre 20° a 42°C. Aunque este grupo indicador no siempre es tenido en cuenta dentro de los límites microbiológicos de superficies en contacto

Tabla 1.

Identificación de aislados. Identificación mediante pruebas rápidas Enterosystem I8R® y Crystal Gram positivos ID Kit®, de los aislados obtenidos de SI y SV en establecimientos formales e informales de preparación y venta de alimentos

Identificación	Gram	Frecuencia de acuerdo al tipo de superficie		Total
		SI	SV	
<i>Citrobacter freundii</i>	Negativo	1		1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	Negativo	4	4	8
<i>Enterobacter alvei</i>	Negativo	1		1
<i>Enterobacter cloacae</i>	Negativo	8	2	10
<i>Escherichia coli</i>	Negativo	1		1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Negativo	3	4	7
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Negativo	6	2	8
<i>Serratia liquefaciens</i>	Negativo	3	3	6
<i>Serratia plymuthica</i>	Negativo		1	1
<i>Serratia marcescens</i>	Negativo	1		1
<i>Aerococcus urinae</i>	Positivo		1	1
<i>Micrococcus kristinae</i>	Positivo	2	2	4
<i>Micrococcus sedentarius</i>	Positivo		1	1
<i>Staphylococcus hemolyticus</i>	Positivo		1	1
<i>Staphylococcus warneri</i>	Positivo		1	1
Total		30	22	52

Fuente: Los autores

con alimentos, las presencias de poblaciones muy altas indican contaminación ambiental, malas prácticas de higiene y, además, pueden representar un peligro potencial para la salud, especialmente en personas inmunosuprimidas, niños y adultos mayores (Da Silva *et al.*, 2018).

Además, no existe una especificación estándar con respecto a límite permisible de BMA en SI de establecimientos como restaurantes, o puestos fijos o ambulantes de comida callejera, por lo cual en este estudio se tomó como referencia la Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994. De acuerdo a estas especificaciones se pudo observar que, en ambas épocas de muestreo, contrario a lo que se esperaba, el porcentaje de SI de locaciones formales por fuera del límite para BMA fue mayor que el de las informales, evidenciando que la contaminación ambiental es alta y los programas de sanitización no presentan un buen alcance. Aunque, en estos lugares, debido a su condición formal, se esperaría menores recuentos, factores como altas temperaturas, tráfico de personal y poco recambio del aire, pueden afectar negativamente favoreciendo el crecimiento de microorganismos. Además, las SI en contacto con alimentos son un ambiente propicio para el crecimiento de bacterias formadoras de biopelícula (Sadiq *et al.*, 2017) (Pometto III and Dimerchi, 2015), una condición que permite a las bacterias protegerse de la acción de los desinfectantes (Stewart, 2002; Vanegas *et al.*, 2009). Los resultados también indican que los planes de higienización sobre las SI son deficientes y que posiblemente se presenta contaminación cruzada, ya que la mayoría de superficies en muy alto riesgo, como fueron bandeja de amase para arepas, tablas de corte, recipiente de almacenamiento, superficies de preparación, exprimidor de naranjas, dispensadores de bebidas y la licuadora, se exponen a alimentos crudos.

Son varios los estudios en restaurantes y establecimientos no formales que reportan recuentos por fuera de los límites permitidos para BMA en SI (Coelho, 2010; De Souza, 2015; Garayoa, 2016); no obstante, entre países no existe un límite estándar y algunos países, como Colombia, carecen de estos, por lo cual comparar los resultados entre este tipo de estudios no siempre es preciso. Por ejemplo, en el estudio realizado por Escobedo-López, Meneses, y Castro (2016), en las cafeterías de una universidad pública de México, a diferencia de nuestros resultados, hallaron que los utensilios en contacto con alimentos (tabla para picar, cuchillos, pinzas para pan, jarra para jugo, rodillo de madera, escurridor para trastes, entre otros) eran las SI que en mayor porcentaje se encontraban dentro de la norma, sin embargo, el 43% estaban fuera de la especificación mexicana (NOM-093-SSA1-1994) (Escobedo, 2016). Por otra parte, la norma peruana, Guía Técnica para análisis microbiológico en contacto con alimentos y bebidas Resolución ministerial N°461 2007/MINSA, (DIGESA, 2007), que también fue teni-

da en cuenta en este estudio, no contempla el recuento de BMA, solo tiene en cuenta sobre SI el recuento para CT y algunos patógenos.

En general sobre SI en contacto con alimentos, la mayoría de estudios se han realizado en ambientes controlados, como son las industrias procesadoras de alimentos, en donde las especificaciones consideran como límite permisible en superficies, alrededor de 30 UFC/cm². No obstante, este es un límite bastante exigente, si se considera que los establecimientos formales o informales incluidos en este estudio, como restaurantes caseros o puestos ambulantes de comida, se encuentran a temperaturas tropicales y alto grado de humedad. A diferencia de las SI, la evaluación de BMA sobre SV mostró que, la mayoría se encontraban dentro del límite permisible, lo que indica que las prácticas de lavado de manos y otras prácticas de higiene controlan a los microorganismos de este grupo, manteniéndolos en un número aceptable. Sin embargo, es importante para los análisis tener en cuenta, que el límite permisible para SI (<400 UFC/cm²) es diferente al de SV (<3 000 UFC/manos). Aunque los límites para BMA establecidos para cada estudio son diferentes, la conclusión común es que cuando existen recuentos de BMA por fuera del límite, es necesario tomar medidas preventivas que ayuden a minimizar la contaminación ambiental y cruzada sobre superficies, para evitar la relación con la aparición de ETAs.

Dentro de los indicadores, los CT son un grupo importante a tener en cuenta, ya que su presencia no solo indica malas prácticas de higiene y contaminación cruzada, sino además, potencial contaminación fecal y posible presencia de patógenos (Da Silva *et al.*, 2018). Los CT son bacterias Gram Negativas en forma bacilar que fermentan la lactosa a temperatura de 35° a 37°C, produciendo ácido y gas (CO₂) en un plazo de 24 a 48 horas. Los CT requieren un hábitat similar al del interior del intestino para su óptimo crecimiento, por lo cual su supervivencia sobre materiales inertes, expuestos al medio ambiente externo, es limitada comparada a la de las BMA. Esto es confirmado por los resultados obtenidos en este estudio, en donde la mayoría de SI analizadas, presentaron recuentos para CT dos log por debajo de los recuentos de BMA. El porcentaje de SI con recuentos de CT por fuera del límite en establecimientos formales, fue significativamente diferente entre épocas de muestreo, permitiendo deducir que la capacitación en buenas prácticas de higiene en la manipulación de alimentos, que hubo antes del segundo muestreo, pudo influenciar de manera positiva a los manipuladores, quienes por lo general son los responsables de la contaminación cruzada.

Por otro lado, aunque en ambas épocas de muestreo y en los dos tipos de locaciones, la mayoría de los manipuladores muestreados (SV) presentaron recuentos dentro de los lí-

mites permisibles, el porcentaje de superficies por fuera del límite para CT fue mayor que para BMA. Las manos y en general las superficies vivas, se han reportado como vehículo de transmisión de microorganismos (Ebner y Figueredo, 2014). Por lo tanto, los resultados obtenidos corroboran que las SV son un buen ambiente para el albergue de CT, lo que siempre representará un riesgo para la salud de los comensales. Los CT no se consideran patógenos, sin embargo, potencialmente podrían indicar la presencia de estos. Estas bacterias hacen parte de la familia *Enterobacteriaceae*, a la cual pertenecen patógenos como *E. coli* enteropatógena, *Klebsiella spp.*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, entre otras bacterias que producen infecciones e intoxicaciones alimentarias (Soto-Varela, Perez-Lavalle, y Estrada-Alvarado, 2016). Teniendo en cuenta lo anterior, aunque la mayoría de los manipuladores en ambos tipo de locaciones presentaron recuentos de CT dentro de límite permisible, la identificación bacteriana demostró la presencia con alta frecuencia de los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Serratia*, géneros que no sólo han sido involucrados en gastroenteritis (Malysh, 2016; Ganji, 2016; Nimri, 2004), sino que también se han reportado como bacterias resistentes a antibióticos y desinfectantes (Azevedo, Albano, Silva y Teixeira 2015). Incluso en el caso de *Klebsiella pneumoniae* se ha comprobado su multiresistencia y la capacidad de persistir por un periodo prolongado sobre superficies de acero inoxidable (Prado, Esparza, Vidal y Durán 2013)

Finalmente, la persistencia de estas bacterias sobre las superficies, no solo incrementan el riesgo de transmisión de ETAs, sino que de igual manera contribuyen a extender la resistencia a antibióticos y desinfectantes.

5. Conclusiones y perspectivas

Los resultados de este estudio nos indican que en ambos tipos de locaciones existen falencias en las prácticas de limpieza y desinfección de superficies y que probablemente los conocimientos sobre manipulación higiénica de alimentos son pocos. Por lo cual en cualquier tipo de establecimiento siempre es recomendable implementar un programa de limpieza y desinfección, que incluya capacitación de los manipuladores y controles microbiológicos frecuentes para poder relacionar los resultados en el tiempo.

Además, existe evidencia de que aislados bacterianos de ambientes no hospitalarios presentan resistencia antibiótica, característica que debe seguir siendo estudiada en profundidad ya que estas bacterias ambientales pueden estar expuestas de forma descontrolada a agentes desinfectantes que activen mecanismos de resistencia a antibióticos y por tanto propagar este problema. ≡

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias bibliográficas

- ASOGWA, F.C. Hygienic and sanitary assessment of street food vendors in selected towns of Enugu North District of Nigeria. En: American-Eurasian Journal of Scientific Research. 2015. vol. 10 no.2., p. 22-26. <https://pdfs.semanticscholar.org/737a/a63fe35d2cbed-8ba65f0156e43f27729d672.pdf>
- AZEVEDO, I.; ALBANO, H; SILVA, P; TEIXEIRA. Antibiotic Resistance of *Enterobacteriaceae* Isolated from the domestic food related environments. En: J. Food Qual. Hazards Control. 2015, vol. 2 no. 2., p. 51-55. http://jfqhc.ssu.ac.ir/browse.php?a_id=145&sid=1&slc_lang=en
- EBNER, B.F.; FIGUEREDO, V.M. Contaminación bacteriana de manos y guantes de manipuladores de alimentos de la vía pública de asunción. En: CIMEL. 2014. vol. 19, no. 2., p. 70-73. <https://www.cimel.felsocem.net/index.php/CIMEL/article/view/492>
- BOLDOCK, E.S. Human skin commensals augment *Staphylococcus aureus* pathogenesis. En: Nature microbiology. julio. 2018. vol. 3 no. 8, p. 881-890. <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0198-3>
- CAMPUZANO, S.; MEJÍA, D.; MADERO, C.; PABÓN, P. Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D.C. En: NOVA. 2015. vol. 13, no.23, p. 81-92. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n23/v13n23a08.pdf>
- COELHO A.I.; RODRIGUES R.C.; LAUREANO J.F.; CORDEIRO DE AZEREDO R.M.; CAMPOS A.M. Microbiological contamination of environments and surfaces at commercial restaurants. En: Ciência & Saúde Coletiva, julio 2010. vol. 15, no. 1, p. 1597-1606. <https://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232010000700071>
- COGEN, A.L.; NIZET, V.; GALLO R.L. Skin microbiota: A source of disease or defence? En: BR J Dermatol, marzo. 2008. vol. 158, no. 3, p.442-455. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2008.08437.x>
- DAZA, M.A.; MARTINEZ, D.X.; CARO-HERNANDEZ, P. Contaminación microbiológica del aire al interior y el Síndrome del Edificio Enfermo. En: Biociencias, junio 2015. vol. 10, n.2, p.37-50 <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5460365>
- DA SILVA, N.; HIROTOMI TANIWAKI M.; CHRISTINA JUNQUEIRA V.; SILVEIRA N.; DA SILVA DO N., et al. Microbiological Examination Methods of Food and Water: A Laboratory Manual. November. 2018. United Kingdom: CRC Press.
- DE SOUZA G.C.; DOS SANTOS C.T.; ANDRADE A.A.; ALVES L. Street food: analysis of hygienic and sanitary conditions of food handlers. En: Ciência & Saúde Coletiva, 2016. vol. 20, no. 8, p. 2329-2338. <https://doi.org/10.1590/1413-81232015208.14922014>
- ESCOBEDO LOPEZ A.; MENESES M.; CASTRO A. Estudio microbiológico (cualitativo y cuantitativo) de superficies inertes que están en contacto con la preparación de alimentos en cafeterías de una universidad pública. En: Revista Electrónica sobre Cuerpos Académicos y Grupos de Investigación en Iberoamérica. Julio 2016. vol.3, no.8, ISSN: 2448 – 6280
- FINK R.; OKANOVIČ D.; DRAŽIČ G.; ABRAMA; ODER M.; JEVŠNIK M. and BOHINC K. Bacterial adhesion capacity on food service contact surfaces. En: Int J Environ Health Res, junio 2017. vol. 27, no.3, p.169-178. <https://doi.org/10.1080/09603123.2017.1310188>

13. FIERER, N.; HAMADY, M.; LAUBER, C.; and KNIGHT, R. The influence of sex, handedness, and washing on the diversity of hand surface bacteria. En: noviembre. 2008. PNAS, noviembre 2008. vol. 105 no. 46, p. 17994-17999; <https://doi.org/10.1073/pnas.0807920105>
14. FLÓREZ, A.C.; RINCÓN, C.; GARZÓN, P.; VARGAS, N. y ENRÍ-QUEZ, C. Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia, 2007. En: asociación colombiana de infectología, diciembre 2008. vol. 12, no.4, p. 255-266. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0123-93922008000400004
15. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION . Bacteriological analytical manual, 8 ed. USA. AOAC, 1998. <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bacteriological-analytical-manual-bam>
16. GANJI L.; ALEBOUYEH M.; SHIRAZI M.H.; ESHRAGHI S.S.; MIRSHAFIEY A.; EBRAHIMI DARYANI N.; ZALI M.R. .Dysbiosis of fecal microbiota and high frequency of citrobacter, klebsiella spp., and actinomycetes in patients with irritable bowel syndrome and gastroenteritis. In: gastroenterol hepatol bed bench, 2016. Vol. 9, No. 4, P. 325-330. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27895859>
17. GARAYOA R.; YÁNEZ, N.; DÍEZ-LETURIA M.; BES-RASTROLLO M.; VITAS A. Evaluation of prerequisite programs implementation and hygiene practices at social food services through audits and microbiological surveillance. In: J FOOD SCI, ABRIL 2016 . Vol. 81, No. 4, PM921-7. DOI: 10.1111. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26953631>
18. INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Las enfermedades transmitidas por alimentos y aguas-ETA. Semana epidemiológica 52 23 al 29 de diciembre de 2018. Bogotá d.c: Instituto Nacional de Salud, 2018. 2p. : ISSN 2357-6189 <https://www.ins.gov.co/buscador-eventos/boletinepidemiologico/2018%20bolet%3%adn%20epidemiol%3%b-3gico%20semana%2052.pdf>
19. JANSEN W.; MÜLLER A.; GRABOWSKI N.T.; KEHRENBERG C.; MUYLKENS B.; AL DAHOUK S. Foodborne diseases do not respect borders: Zoonotic pathogens and antimicrobial resistant bacteria in food products of animal origin illegally imported into the European Union. En: Vet J. Febrero 2019, vol.244, p.75-82 doi: 10.1016/j.tvjl.2018.12.009. Epub 2018 Dec 12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30825899>
20. LANGIANO E.; FERRARA M.; LANNI L.; VISCARDIV.; ABBATECOLA A.M.; DEVITO E. Food safety at home: knowledge and practices of consumers. En: Z. Gesundh Wiss, febrero. 2012 vol. 20, no. 1, p. 47-57. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3268974/>
21. MALYSH N.G.; CHEMYCH N.D.; ZARITSKY A.M. Incidence, predisposing risk factors for the development and spreading of acute intestinal infections in the north-eastern region of Ukraine. En: Gig Sanit, 2016 vol.95, no.3, p.287-92. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27266031>
22. NEXTICAPA, M.; ILLESCAS, I.; CERVANTES, C. Inocuidad Alimentaria en el Mercado "Adolfo Ruiz Cortinez": Veracruz, Mexico: Editorial Academia Española. octubre. 2012. 104 p. ISBN-10: 3659042854
23. MEXICO, SECRETARÍA DE SALUD DE MEXICO. Norma oficial mexicana nom-093-ssa1-1994, Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Ministerio de Salud e Mexico, 1994.
24. MKHUNGO, M. C.; OYEDEJI, A.B. and IJABADENIYI O.A. Food safety knowledge and microbiological hygiene of households in selected areas of Kwa-Zulu Natal, South Africa. En: Italian journal of food safety, julio. 2018. vol.7, no.2, p. 6887. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2018.6887>. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6036997/>
25. NIMRI, L.F.; MEQDAM, M. Enteropathogens associated with cases of gastroenteritis in a rural population in Jordan. En: Clinical Microbiology and Infection. julio. 2004. vol. 10, no. 7, p. 634-639. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1198743X14628913>
26. PERÚ, MINISTERIO DE SALUD, DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD AMBIENTAL (DIGESA). Resolución ministerial N° 461-2007. Guía Técnica para el análisis microbiológico de superficies en contacto con alimentos y bebidas. El Ministerio, 2007. https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM_461_2007.pdf
27. POMETTO III, A.L. and DEMIRCI, A. Biofilms in the Food Environment, 2ed. John Wiley & Sons, Ltd. Agosto, 2015. ISBN:9781118864142 | Online ISBN:9781118864036 <https://doi.org/10.1002/9781118864036>
28. PRADO J.V.; ESPARZA M.M.; VIDAL A.R.; DURÁN T.C. Adherence to copper and stainless steel metal coupons of common nosocomial bacterial strains. En: Revista médica de Chile, marzo 2013. vol.141, no.3, p. 291-297. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-9887>. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23900318>
29. SADIQ, F.A.; FLINT, S.; YUAN, L.; LI, Y.; LIU, T.; HE, G. Propensity for biofilm formation by aerobic mesophilic and thermophilic spore forming bacteria isolated from chinese milk powders. En: International Journal of Food Microbi. Diciembre 2017. vol.4 no.262, p. 89-98. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.09.015>. Epub 2017 Sep 27. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28968534>
30. SCOTT E; and BLOOMFIELD, F. The survival and transfer of microbial contamination via cloths, hands and utensils. En: J Appl Bacteriol. abril 1990. vol. 68, no.3, p.271-8. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2672.1990.tb02574.x>
31. SOTO-VARELA, Z.; PEREZ LAVALLE, L. and ESTRADA ALVARADO, D. Bacterias causantes de enfermedades transmitidas por alimentos: una mirada en Colombia. En: Salud Uninorte. 2016. vol.32, no.1, p.105-122. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-55522016000100010&script=sci_abstract&tlng=es
32. STEWART P.S. Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. En: Int J Med Microbiol. Jul 2015. vol.292, no.2, p. 107-13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12195733>
33. SUESCÚN-CARRERO, S.; AVILA.-PANCHE, S. Evaluación microbiológica en programas de alimentación escolar en instituciones educativas en el Departamento de Boyacá – Colombia. En: Nova. 2017. vol. 15 no.28, p.93-98. <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/572>
34. TEH, K.H.; FLINT, S.; PALMER, J.; LINDSAY, D.; ANDREWES, P.; BREMER, P. Thermo-resistant enzyme-producing bacteria isolated from the internal surfaces of raw milk tankers. En: International Dairy Journal, octubre 2011. vol. 21, no.10, p.742-747. <https://pubag.nal.usda.gov/catalog/399044>
35. TODD E.C.; GREIG J.D.; BARTLESON C.A.; MICHAELS B.S. Outbreaks where food workers have been implicated in the spread of foodborne disease. Part 7. Barriers to reduce contamination of food by workers En: J Food Prot. Aug 2010, vol.73, no.8, p.1552-65. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20819372>
36. VANEGAS L, M. et al. Resistencia a antibióticos de bacterias aisladas de biopelículas en una planta de alimentos. En: Revista MVZ Córdoba, julio 2009. vol.14, no.2, p. 1677-1683. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682009000200003
37. VELÁSQUEZ, J.D.; PALACIOS, B. M.; CAJALEON, D.H. Calidad sanitaria de sandwiches que se expendían en la ciudad de huacho. En: Revista de Ciencia y Tecnología, 2011. vol.1, no.1, p.53-58. <http://revistas.unjfc.edu.pe/index.php/INFINITUM/article/view/313>

38. WHITE D.G.; ZHAO S.; SIMJEE S.; WAGNER D.D.; MCDERMOTT P.F. Antimicrobial resistance of foodborne pathogens. *En: Microbes Infect.* Abril. 2002. vol.4, no.4: p. 405-12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11932191>
39. ZAPKA C.A.; CAMPBELL E.J.; MAXWELL S.L.; GERBA C.P.; DOLAN M.J.; ARBOGAST J.W.; MACINGA D.R. Bacterial hand contamination and transfer after use of contaminated bulk-soap-refillable dispensers. *En: Appl Environ Micro.* Mayo. 2011. vol. no 772898-2904. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21421792>