BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA

“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS PATÓGENAS EN MANOS DE ESTUDIANTES DE GASTRONOMÍA DE UNA UNIVERSIDAD PÚBLICA”

TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TITULO

DE QUÍMICO FARMACOBIÓLOGO

PRESENTA:

JENNY PAOLA MORALES VÁZQUEZ

DIRECTORA DE TESIS:

D.E.D ANA BERTHA ESCOBEDO LÓPEZ

ASESOR DE TESIS:

M.S.P MARÍA DE LA CRUZ MENESES SÁNCHEZ

PUEBLA, PUEBLA 2021

Facultad de Ciencias Químicas BUAP

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que me dedicaron su tiempo y apoyo durante la elaboración de esta investigación, en especial a aquellas que creen en mí en mi desarrollo como estudiante, amiga, hija, hermana, familia y ciudadana.

Primero que nada, el agradecimiento es para mi madre **Rosa María Vázquez Arenas** ya que todo esto no hubiera sido posible si ella no me hubiera dado la vida y si no me exigiera y apoyara en cada momento y en cada una de mis decisiones.

A mi hermana **Jessica Samhara Morales Vázquez**, por ser mi compañera de vida y mi gran amiga, por todo tu amor, apoyo y confianza.

A ustedes profesoras **Ana Bertha Escobedo López** y **María de la Cruz Meneses Sánchez** por ser mi fuente de conocimientos, apoyo incondicional y por mostrarme que el área de Microbiología y Bacteriología son muy interesantes cuando les llegas a tomar cariño, por ser pacientes, por siempre motivarme, pero sobre todo por brindarme su amistad haciendo que todo fuese más sencillo y ameno.

A tres personas muy importantes a **Alberto Vázquez García** mi padre y abuelo, **Ana María Arenas Arellano** mi querida tía y a **Oscar Pérez Toriz** un gran maestro y buen amigo, que a pesar de habernos dejado para poder estar en un mejor lugar siempre estarán presentes en mi corazón

Agradezco a mis amigos y compañeros de la universidad ya que, gracias a ellos, las clases siempre fueron amenas y muy divertidas, la lista es larga pero dentro de esta los más importantes son los que estuvieron conmigo durante mi servicio social y prácticas profesionales, aquellos que a pesar de la hora o de cuanto trabajo teníamos pendiente por entregar siempre supieron cómo mantener la alegría en el ambiente.

Especialmente a **Bere, Cris, Diego, Emma, Marla y Osiris** por siempre estar ahí cuando más lo necesitaba, por su apoyo incondicional y cada buen momento que pasamos juntos.

Si no fuera por cada uno de ustedes esto no sería posible…

DEDICATORIA

"Un sueño que sueñas solo es un sueño. Un sueño que compartes con alguien es una realidad" (John Lennon)

La elaboración de este trabajo de investigación se lo dedico a mi familia…

GRACIAS, en verdad gracias por mostrarme que para triunfar en esta vida se necesita esfuerzo y dedicación, claro combinado con sangre, sudor y lágrimas, si literalmente sangre.

A ti mami por enseñarme a ser una persona dedicada y responsable en cada uno de los objetivos que me planteo, por todo el amor, el apoyo incondicional, la confianza y el tiempo que nos dedicas siempre, por ser mi guía en cada paso que he dado, por creer en mí y en las decisiones que he tomado hasta este momento.

A ti hermanita te agradezco todo el amor, apoyo, confianza, pero sobre todo por estar ahí cuando más lo he necesitado, por ser más que mi hermana… Mi amiga y confidente.

A mis tíos y abuelos por estar siempre a mi lado apoyándome y dándome ánimos.

INDICE

1. RESUMEN 6
2. INTRODUCCIÒN 7
3. MARCO TEÒRICO 9
3.1 FLORA HUMANA NORMAL 10
3.2 SITIOS COLONIZADOS Y SITIOS ESTÉRILES 10
3.3 FLORA RESIDENTE Y TRANSITORIA 10
3.4 IMPORTANCIA DE LA FLORA NORMAL 11
3.5 FLORA NORMAL DE LA PIEL 12
3.6 COMPOSICIÓN 12
4. TRANSMISIÒN DE MICROORGANISMOS 13
5. BACTERIAS TRANSMITIDAS A TRAVÉS DE LAS MANOS 15
6. RECUENTO DE MICROORGANISMOS INDICADORES 24
6.1 CARACTERES BIOQUÍMICOS 24
6.2 HÁBITAT 24
6.3 BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS 25
7. SUPERVIVENCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS MANOS 26
8. TECNICAS PARA REALIZAR LA HIGIENE DE MANOS 27
8.1 HIGIENE DE MANOS CON AGUA Y JABON SIMPLE 27
8.2 HIGIENE DE MANOS CON PREPARADOS DE BASE ALCOHÓLICA 28
9. PROBLEMAS PRÁCTICOS PARA LA ÓPTIMA HIGIENE DE MANOS 30
9.1 ESTADO DE LA PIEL 30
9.2 USO DE JOYAS 30
9.3 UÑAS 31
9.4 SECADO DE MANOS 31
10. MARCO DE REFERENCIA 32
11. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 36
12. JUSTIFICACIÓN 37
13. OBJETIVOS 38
14. METODOLOGÍA 39

1. Toma de muestras....40
2. Primeras 24 horas....41
3. Estría cruzada....41
4. Lectura de placas....42
5. Lectura de resultados de pruebas bioquímicas....42
15. ESQUEMAS DE TRABAJO....43
16. RESULTADOS....51
17. DISCUSIÒN....56
18. CONCLUSIONES....59
20. BIBLIOGRAFIA....60
21. ANEXOS....65

1. RESUMEN

Para la formación académica de los estudiantes de Gastronomía se involucra la interacción continua con alimentos y utensilios en el entorno que lo rodea donde los microorganismos que se encuentran presentes en estos lugares pueden ser adquiridos y transmitidos si no se tiene una correcta higiene de manos provocando una mayor prevalencia de enfermedades gastrointestinales. En el presente estudio se analizaron muestras obtenidas de manos provenientes de estudiantes de Gastronomía de una Universidad Pública de la ciudad de Puebla (n=44), durante tres muestreos aleatorios tomando muestras de manos considerando palma, dorso, dedos y uñas para así realizarles cultivo en diferentes agares para su desarrollo, tinción de gram y posterior identificación. Esta investigación tuvo como objetivo el establecer la incidencia de microorganismos aislados en las manos de los estudiantes de la Licenciatura de Gastronomía. Los resultados obtenidos durante esta investigación indican una alto porcentaje de bacterias en las manos de los estudiantes de la Licenciatura de Gastronomía de una Universidad Pública, siendo relevante la presencia de *Enterobacter cloacae* en un 23.2% ya que este es un microorganismo que se encuentra en la naturaleza y forma parte de la flora intestinal en humanos y animales de sangre caliéntese coinvirtió en un patógeno importante que causa infecciones de origen nosocomial de las cuales se encuentra: bacteriemia, infección respiratoria, del tracto urinario y abdominal. En menor cantidad también se encontró la presencia de *Staphylococcus aureus* (11.6%), *Enterobacter aerogenes, Staphylococcus epidermidis, Enterobacter agglomerans, Serratia marcenses,* (9.3%), *Providencia* spp (6.9%), *Enterobacter* spp*, Shigella* spp (4.6%), *Alcaligenes* spp*, Klebsiella pneumonie, Citrobacter freundii, Serratia rubidae, Klebsiella oxytoca* (2.3%). Por lo tanto, es importante implementar estrategias que minimicen la circulación de microorganismos durante la manipulación de alimentos y utensilios de cocina dando a conocer a los alumnos las técnicas que deben realizarse y poner a su alcance los materiales necesarios para que mantengan una buena higiene de manos.

2. INTRODUCCIÓN

La mayoría de las personas que se ven involucradas en la elaboración de alimentos no llega a realizar de forma correcta el lavado de manos, por lo que se originan alrededor de 80 000 000 de casos de enfermedades transmitidas por alimentos y un aproximado de 10,000 muertes por año de los casos conocidos en todo el mundo.

Las bacterias pueden esparcir por la cocina usando como medio transporte las manos, instrumentos de cocina o superficies, a través de un evento llamado Contaminación Cruzada, por lo que el lavarse las manos con cuidado y frecuentemente es la base de un manejo adecuado de alimentos.

Bacterias y virus se encuentran en el medio ambiente y en la piel de las personas que no se lavan las manos, estos microorganismos se transmiten a los alimentos que manipulan. Las manos se han considerado como una de las principales fuentes de contagio de microorganismos en los alimentos, por lo que es importante el mantener una correcta higiene. Lavarse las manos antes y después de comer, después de utilizar el baño, después de estar en contacto con espacios de uso público son hábitos que se deben tener perfectamente interiorizados para evitar contagios que puedan llegar a afectar a nuestra salud. Los manipuladores de alimentos juegan un papel muy importante en este sentido y, por lo tanto, deben mantener una higiene lo más completa posible.

Los resultados de la investigación que se presentan a continuación se realizaron con la participación de estudiantes de la Licenciatura de Gastronomía de una Universidad Pública, quienes apenas se están desarrollando en el área y deben tener los conocimientos básicos sobre lo importante que es el lavado de manos para la manipulación de los alimentos.

Por lo que este estudio quiere proporcionar información sobre los conocimientos que poseen los alumnos de Gastronomía acerca de la higiene que mantienen durante la elaboración de alimentos. Se espera que esta información sirva para la modificación de los programas de educación para que incrementen, se fortalezcan o mejoren los conocimientos y prácticas de las personas responsables de la preparación de alimentos, para la disminución de enfermedades transmitidas por los alimentos.

Esta investigación tiene como objetivo el determinar el nivel de conocimiento que tienen los alumnos sobre la higiene en la manipulación de alimentos y su relación con

la carga microbiológica que puede llegar a encontrarse en las manos de los alumnos de la licenciatura de Gastronomía los cuales en sus laboratorios llegan a manipular una gran cantidad de alimentos con la finalidad de preparar la receta indicada por su profesor.

La población a muestrear estaba constituida por 44 alumnos que manipulan los alimentos, las muestras fueron obtenidas mediante un muestreo aleatorio simple entre estudiantes del sexo masculino y femenino seleccionando 6 grupos diferentes, en donde se tomaron 17 alumnos para ser evaluados.

Para el presente estudio se hizo uso de una “CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO” para que los alumnos objetos de estudio estuvieran informados sobre el procedimiento de la toma de muestra, el estudio a realizar y la autorización para que los resultados obtenidos formen parte de la presente investigación. Para cuantificar la carga microbiológica de ambas manos que contenga los alumnos la muestra fue obtenida por el método de la esponja, el cual consiste en frotar ambas manos la palma, dorso, dedos y uñas con un apósito de gasa estéril humedecida con solución salina isotónica estéril antes de que los alumnos inicien su práctica en el laboratorio, es decir, antes de iniciar la manipulación de los alimentos.

3. MARCO TEÓRICO

A lo largo del tiempo se pueden hallar diferentes investigadores que contribuyeron a nuestra vida con diversas formas de eliminar virus y bacterias causantes de enfermedades en cada una de sus épocas.

Semmelweis (1846), obstetra de Viena vincula que la fiebre puerperal, por la propagación de partículas patógenas transmitidas por las manos y su relación con la muerte materna. Su participación demuestra la importancia del lavado de manos en la prevención de la infección cruzada; esta investigación es tomada en cuenta como el primer análisis epistemológico. En el año de 1961 se realizaron las primeras sugerencias de lavado de manos para los empleados del área de Salud por el Sistema de Salud Pública de E.E.U.U., señalando que las manos de los empleados tenían que ser desinfectadas con agua y jabón durante unos minutos antes y después de estar en contacto con el paciente.[50]

El Centro para el control y la Prevención de Enfermedades (CDC) y la Asociación de Profesionales de Control de Infección escribieron manuscritos para el lavado de manos que deben mantener los hospitales, en donde se aconsejaba el uso de soluciones antisépticas en señaladas situaciones y ante pacientes de riesgo todo esto ocurrió de 1975 a 1985. De 1995 a 1996 el CDC, el Comité Asesor sobre Prácticas para el Control de/la Lucha contra Infecciones Hospitalarias (HICPAC) y la Asociación de Profesionales en Control de Infecciones y Epidemiología (APIC) examinaron las normas y establecieron las recomendaciones necesarias para el lavado de manos y como aislar bacterias multirresistentes como las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a la meticiclina (MRSA) y por *Enterococcus* vancomicina resistente (EVR). En octubre 2002 se difundió la Guía para la higiene de manos en el medio sanitario por los CDC, en el Morbidity and Mortality Weekly.[5]

La Organización Mundial de la Salud (OMS) (2005), por medio de la Alianza Mundial para la Seguridad del Paciente, publico un Reto Mundial para el beneficio de la Seguridad del Paciente para una atención limpia y una atención más segura, para reducir las IRAS (Infecciones Respiratorias Agudas). Estaba formada por varias instrucciones, donde la principal acción es la higiene de manos. España durante el 2006 se unió oficialmente al reto de la Alianza Mundial para la Seguridad del Paciente y el Plan de Calidad para el Sistema Nacional de Salud, el cual señalaba en sus principales prioridades el aumento de políticas encaminadas a garantizar la salud del paciente. Después de eso se fundó la campaña mundial «salve vidas: límpiese las

manos» liderada por la OMS con ayuda de trabajadores de la salud (2009), para perfeccionar la higiene de manos en la atención del paciente. También se hizo pública una guía para los centros sanitarios, donde se dieron a conocer los cinco momentos en los cuales los profesionales de la salud tienen que realizar el lavado de manos. Este plan fue realizado con el objetivo de fomentar la higiene de manos.[14]

3.1 FLORA HUMANA NORMAL

Las personas muestran una superficie cutánea y mucosa extensa que se encuentra en relacionada con el ambiente que le rodea. Aquí se encuentran compartimientos donde habitan microorganismos con características diferentes. La flora humana normal está compuesta por microorganismos que conviven sin provocar algún padecimiento. Su distribución es propia de los seres humanos, desde los microorganismos que la forman, como el número y su distribución en el organismo.[54]

3.2 SITIOS COLONIZADOS Y SITIOS ESTÉRILES

La flora normal penetra zonas cutáneo-mucosas. En el organismo existen lugares estériles en estado normal, un ejemplo de estos son la pleura, meninges, pericardio, etc. Las técnicas usadas para la obtención de una muestra cuando en la zona existe microorganismos son distintas que las zonas donde no tienen. Los medios usados para el cultivo que se usan para procesar las muestras y para la interpretación de los resultado también sondiferentes.[54]

3.3 FLORA RESIDENTE Y TRANSITORIA

La flora la flora normal es un rasgo distintivo de cada sitio del organismo y se forma por microorganismos que siempre están presentes en esa zona. Un ejemplo puede ser *Staphylococcus epidermidis* en piel o *Escherichia coli* en intestino. Por otro lado, la flora transitoria es inestable de un ser humano a otro y está formada por microorganismos que penetran esporádicamente un determinado lugar. La flora transitoria comprender bacterias patógenas para las personas que estén en contacto con él.

a) **FLORA RESIDENTE:** Son todos los microorganismos que se localizan de forma normal en la piel, se alojan en los folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas, estos no pueden eliminarse con facilidad por frotación por lo que permanecen más tiempo. Representan cerca del 10-20% de la flora microbiana,

no suelen provocar infecciones en sitios corporales estériles y son útiles para la salud de la dermis debido al antagonismo microbiano y a la competitividad por nutrientes del ecosistema [53] (Ver tabla 1).

Los microorganismos que forman parte de la flora residente son:

1. *Staphylococcus epidermidis*
2. *Staphylococcus hominis* y otros *Staphylococcus* coagulasa negativos
3. Bacterias corineformes *(Propionibacterium, Corynebacterium, Dermabacter y Micrococcus*)
4. Hongos (*Malassezia* spp)

b) **FLORA TRANSITORIA O CONTAMINANTE:** Este grupo contiene microorganismos que habitan la parte superior de la piel y se obtienen durante el contacto directo con superficies, objetos o personas, se transfieren fácilmente a personas u objetos del medio ambiente, aunque su transmisión depende de las especies, el número de microorganismos que se encuentran en la superficie y el nivel de humedad en la piel. Estas tienen un corto tiempo de resistencia sobre la piel, pero un alto potencial negativo (*Proteus mirabilis, Klebsiella* spp., *Acinetobacter spp*.) son los causantes de las infecciones en la asistencia sanitaria y de la transmisión de microorganismos resistentes a antibióticos. Pueden ser eliminados con escasa facilidad por los productos usados para la higiene de manos.[53]

Las manos de los manipuladores de alimentos pueden estar colonizadas por microorganismos patógenos como:

1. *Staphylococcus aureus.*
2. Bacilos gramnegativos*.*
3. Levaduras.

3.4 IMPORTANCIA DE LA FLORA NORMAL

La flora humana normal es un instrumento que se usa como protección que favorece el incremento de la respuesta inmunológica, como se ha manifestado en modelos animales que son criados en condiciones especiales (individuos axénicos). Estos tienen un desarrollo pobre en su sistema inmunitario. La flora normal evita que se dé el establecimiento en piel o mucosas por bacterias patógenas, donde primero colonizan los epitelios compitiendo con los integrantes de la flora normal por nutrientes (Ver tabla 1).[54]

Tabla 1. Efectos directos e indirectos de la flora normal

EFECTOS DIRECTOS	Producción de bacteriocinas Producción de metabolitos tóxicos Reducción del potencial redox Consumo de nutrientes esenciales Competencia por receptores
EFECTOS INDIRECTOS	Aumento de la producción de anticuerpos. Estímulo de la fagocitosis Aumento de la producción de interferón. De conjugación de ácidos biliares

Fuente: Torres, 2017.

3.5 FLORA NORMAL DE LA PIEL

La piel de las personas es una zona con variaciones en la composición, lo que establece la diversidad que se ve en la densidad y composición de los microorganismos, según la zona de la que se hable. La mayoría de los microorganismos colonizan el estrato córneo.

Los mecanismos de defensa de la piel son:

a) El constante intercambio celular de las capas superiores de la piel.
b) pH bajo.
c) Macrófagos en la piel.

La composición de la flora, en las formas cualitativas y cuantitativos, están influidas por los factores del clima, condiciones de higiene, etc.[54]

3.6 COMPOSICIÓN

Predominan las bacterias Grampositivas.

En la flora basal predominan las bacterias grampositivas entre las que se pueden señalar a *Staphylococcus spp, S. epidermidis, Micrococcus spp, Corynebacterium spp* y *Propionibacterium acnes* este último es un bacilo Grampositivo anaerobio que se localiza en glándulas sebáceas. La flora transitoria está formada por *S. aureus* y en cantidades menores de bacilos Gramnegativos (Enterobacterias, *Acinetobacter*) en regiones como axilas, ingle y perineo.

Los microorganismos provocan infecciones cuando la piel tiene heridas o lesiones causantes de infecciones como foliculitis o furunculosis las cuales tienen origen a nivel de folículos pilosos o glándulas. Otras son provocadas por microorganismos que se encuentran al colocar catéteres percutáneos u otros aparatos que provoquen la ruptura de la barrera cutánea. El microorganismo del conducto auditivo externo es similar a la de la piel. El oído medio es completamente estéril.[54]

4. TRANSMISIÒN DE MICROORGANISMOS

Las infecciones que llegan a estar vinculadas con la manipulación de alimentos pueden ser provocadas por microorganismos que se encuentran en la piel o mucosas de la persona que los manipula (endógenos) o por bacterias que se transfieren de persona a persona o incluso por el ambiente (exógenos).

La transmisión de microorganismos se realiza por 3 formas:

a) Por contacto.
b) Por aire.
c) A través de vehículos comunes.

La transmisión por contacto se refiere a lo que pasa cuando una persona toca la zona contaminada, esto sucede por contacto directo (entre la persona y la zona contaminada) o contacto indirecto (cuando en la transmisión intercede otro elemento o material contaminado).

La mayor parte de las enfermedades gastrointestinales, las manos de los manipuladores de alimentos son consideradas el principal medio para la propagación de bacterias de la piel a las mucosas (un ejemplo de esto son las vías respiratorias), en sitios que comúnmente se encuentran estériles. La transmisión de infecciones asociadas a la manipulación de alimentos depende de 5 acciones esenciales:

a) Las bacterias se encuentran en la piel del manipulador de alimentos o en los objetos que se encuentran a su alrededor.
b) Las bacterias son transportadas a manos de los manipuladores.
c) Los microorganismos pueden sobrevivir durante algunos minutos en las manos de los manipuladores de alimentos.
d) Los manipuladores de alimentos no realizan la higiene de manos, llegan a realizarla inadecuadamente o los productos que ocupan para el lavado de manos no es el adecuado.

e) Las manos contaminadas de los manipuladores de alimentos están en contacto directo con otra persona o alguno de los objetos inanimados que lo rodean.[53]

Durante la jornada laboral las manos de los manipuladores de alimentos se colonizan con la flora del comensal, con probables microorganismos patógenos donde la contaminación llega a aumentar con el tiempo. Cuando no hay una buena higiene, mientras más sea el tiempo sin lavado de manos, mayor será el grado de contaminación.[52]

Los factores que intervienen en la propagación de bacterias de una zona a otra son:

a) Tipo de microorganismo.
b) La superficie de procedencia y destino.
c) El nivel de humedad.
d) Tamaño del inoculo.

5. BACTERIAS TRANSMITIDAS A TRAVÉS DE LAS MANOS

Salmonella* spp*: se encuentra como comensal y patógeno en el tracto gastrointestinal de los humanos, mamíferos domésticos y salvajes, causando una gran variedad de enfermedades.[49]

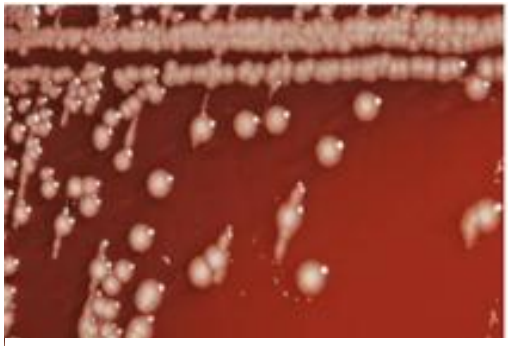


Figura 1. Detalle ampliado de colonias de *Salmonella spp* en agar sangre.
Fuente: Sabalete, 2010

Desde el punto de vista epidemiológico se puede clasificar en tres grupos: aquellas que no tienen preferencia por algún huésped (cerdos, aves y pescados); las que infectan solo al hombre *(S. typhi, S paratyphi A, S paratyphi C)* y las que se adaptan a un solo hospedero en especies animales (*S. abortusovis, S. abortusequi, S. gallinarum)* La mayoría de las especies producen colonias grandes, grisáceas y lisas, como la mayoría de enterobacterias (Ver figura 1).

Es uno de los géneros que se asocia a brotes de enfermedades de origen hídrico, ya que se aíslan de agua fresca (Ver figura 1). Son capaces de sobrevivir condiciones de estrés por largos periodos de tiempo, puede resistir la deshidratación, así como en concentraciones del 20% de sal (salmuera).

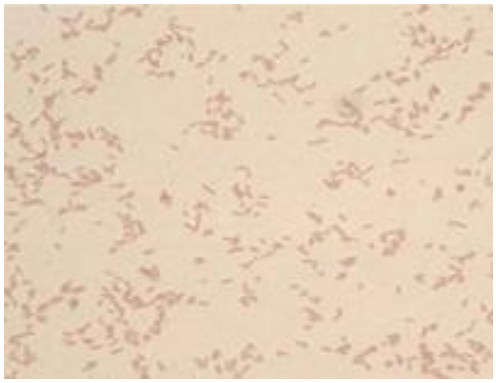


Figura 2. Tinción de gram. 1000 aumentos. Bacilos cortos, pletóricos, con extremos redondeados.
Fuente: Sabalete, 2010

Es el agente causal de diferentes infecciones intestinales conocidas como SALMONELOSIS que pueden dividirse en dos síndromes “La fiebre entérica” (causada por *S. typhi)* y “La fiebre paratifoidea” (causada por, *S paratyphi A, S paratyphi C)* y la gastroenteritis o intoxicación por alimentos la cual es una enfermedad restringida a la mucosa intestinal siendo los serotipos más comunes *S typhimurium y S. enteritidis.* Provocando una infección por fases en donde la puerta de entrada es la vía digestiva donde el bacilo pasa la barrera defensiva representada por la acidez gástrica antes de adherirse e invadir las células del epitelio intestinal y penetrar por medio de ciertos genes de virulencia en su interior donde se multiplica y produce alteraciones histopatológicas.[35]

Listeria monocytogenes: Esta bacteria está ampliamente distribuida en la naturaleza, se le puede encontrar en el agua y tierra. Puede ser aislada de diversos ambientes como suelo, agua fresca, aguas residuales y vegetación, llega a infectar numerosos animales domésticos contaminando la vegetación y suelo que habitan.[31] Es también un contaminante frecuente de los productos alimentarios, ya que es capaz de generar un biofilm en alimentos que se encuentren en refrigeración, porque tiene la capacidad de crecer a 4°C.

Figura 3. *Listeria monocytogenes*. Cultivo de *L. monocytogenes* en agar sangre.
Fuente: Sabalete, 2010

Las colonias son suaves, ligeramente convexas, con bordes regulares, traslúcidos y una pequeña zona de β hemólisis, con transiluminación oblicua se aprecia un color azul verdoso. (Ver figura 4) En hemocultivo, se pueden encontrar bacilos pequeños, rectos (unos pocos pueden ser curvados) con extremos redondeados (Ver figura 5).

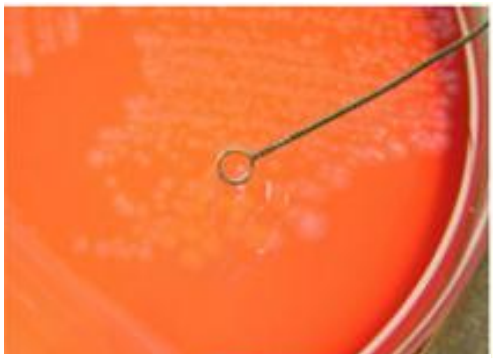


Figura 4. *Listeria monocytogenes*. Detalle ampliado del aspecto macroscópico de L. monocytogenes.
Fuente: Sabalete, 2010

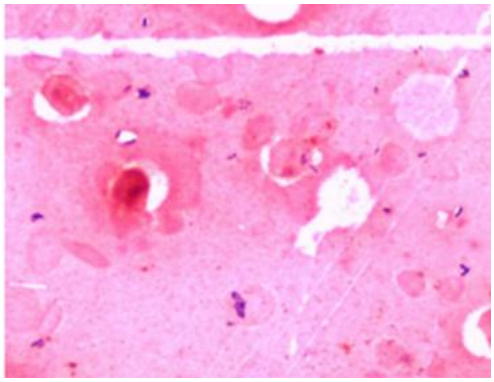


Figura 5. *Listeria monocytogenes*. Tinción de gram. Microscopía óptica. 1000 aumentos.
Fuente: Sabalete, 2010

Es el agente causal de la listeriosis el cual afecta principalmente adultos mayores, personas con sistemas inmunológicos debilitados, mujeres embarazadas y recién nacidos. Rara vez, las personas sin estos factores de riesgo pueden verse afectadas. Una persona con listeriosis generalmente tiene fiebre y dolores musculares, a menudo precedidos por diarrea u otros síntomas gastrointestinales. Casi todos los que son diagnosticados con listeriosis tienen infección invasiva (lo que significa que las bacterias se propagan desde sus intestinos a su torrente sanguíneo u otros sitios del cuerpo). La enfermedad puede ocurrir hasta dos meses después de comer alimentos contaminados.[43]

Escherichia coli: se caracteriza por ser bacilo gramnegativo, no esporulado que producen indol a partir de triptófano, no ocupan citrato como fuente de carbono, fermenta glucosa y lactosa con producción de gas. Las colonias de esta bacteria varían según el medio de cultivo donde se desarrollen, en este caso el medio de cultivo es Agar Eosina Azul de Metileno, como se puede observar en la imagen las colonias presentan una coloración verde-metálico característico de *E. coli*, se logran ver colonias aisladas, de tamaño mediano, circulares, convexas, moradas, contorno verde-metálico, bordes redondeados (Ver figura 6).[40]

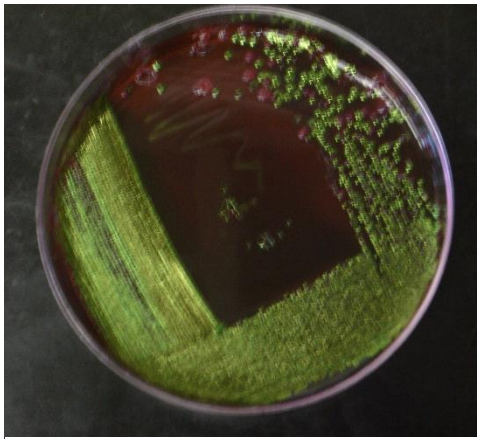


Figura 6. Color verde metálico en las colonias característico de *Escherichia coli* en medio de cultivo. EMB
Fuente: Reyes, 2011

En agar Mac Conkey se ven colonias medianas, circulares, convexas, bordes redondeados, lactosa positiva lo que les da coloración rosada. (Ver figura 7).

Figura 7. *Escherichia coli* en agar Mac Conkey.
Fuente: Reyes, 2011

Como todas las bacterias gramnegativas la cubierta de *Escherichia coli* está formada por tres elementos: la membrana citoplasmática, la membrana externa y, entre ambas, un espacio periplásmico constituido por peptidoglucano. La última estructura da a la bacteria forma y rigidez, le permite resistir presiones osmóticas ambientales relativamente elevadas.[40]

Escherichia coli es una bacteria mesófila, su óptimo de desarrollo se encuentra a la temperatura corporal de los animales de sangre caliente (35-43 ºC), la temperatura límite de crecimiento está alrededor de 7 ºC, indicando que un control eficaz de la cadena de frío en las industrias alimentarias es esencial para evitar el crecimiento de *Escherichia coli* en los alimentos.

La congelación tiene pocos efectos sobre la población de *E. coli* en el alimento, y no garantiza la eliminación de un número suficiente de bacterias viables para asegurar su inocuidad. Sin embargo, *E. coli* es sensible a temperaturas superiores a 70 ºC, a partir de la cual son fácilmente eliminadas; por ello, es muy importante la pasteurización de alimentos como la leche, zumos, etc., para garantizar su eliminación.[39]

Clostridium perfringens: Pueden encontrarse en los intestinos de los seres humanos y de varios animales homeotermos, en el suelo, en el agua, en los alimentos (sobre todo en las carnes que no están bien cocinadas).

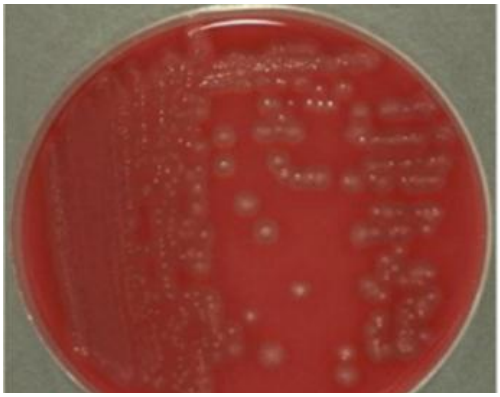


Figura 8. Cultivo en Agar sangre en anaerobiosis.
Fuente: Sabalete, 2010

Antes conocido como *Bacillus aerogenes capsulatus, Bacillus perfringens*, *Bacillus welchii* o *Clostridium welchii*.

Las colonias pueden presentar un aspecto pleomórfico dando la impresión de un cultivo mixto. Debe hacerse un subcultivo de una simple colonia para comprobar el pleomorfismo. Su capacidad patógena está condicionada por un rápido crecimiento en ambientes enriquecidos y privados de oxígeno (Ver figura 8).[34]

La morfología de las colonias de *Clostridium* spp. es muy variable depende de la especie, pueden ser grises (*C. tetani*), de bordes irregulares (*C. bifermentans, C. septicum, C. tertium*) con producción de pequeña hemólisis (*C. bifermentans, C. tetani*) o doble hemólisis (*C. perfringens, C. novyi*) o producción de velo (*C. novyi, C. septicum, C. sporogenes, C. sordelli*) (Ver figura 9).

Figura 9. *Clostridium perfringens,* en tinción de Gram.
Fuente: Miranda, 2010

Las enfermedades causadas pueden llegar a ser fatales. *Clostridium perfringens* es la especie aislada con mayor frecuencia en humanos, se encuentra en la microbiota normal del tubo digestivo y de manera transitoria en la piel, por lo que muchos aislamientos pueden ser contaminaciones accidentales. Por el contrario, está implicado en numerosas enfermedades graves como gangrena gaseosa, colecistitis gangrenosa, septicemia, infecciones pleuropulmonares e intoxicaciones alimentarias, entre otras.

Constituye el agente etiológico más importante de la gangrena gaseosa. Además, es responsable de otros cuadros clínicos como son: toxiinfecciones alimentarias, enteritis necrosante, celulitis e infecciones inespecíficas.[47]

***Bacillus cereus*:** Es una bacteria perteneciente al género *Bacillus,* el cual, visto al microscopio, es un bastón alargado, con flagelos perítricos. Se pueden llegar a observar colonias grandes, planas, blanquecinas, forma irregular, bordes lobulados, dan la apariencia de estar secas (Ver figura 11), también se observa una protuberancia en el centro de las colonias lo cual les da una apariencia de huevo estrellado (Ver figura 12).

Figura 11. Colonias de *Bacillus sp* en agar nutritivo.
Fuente: Cuervo, 2010

Las células son de 1,0-1,2 µm en el diámetro 3,0-5,0 µm de largo.

Es capaz de usar glucosa, fructuosa y trehalosa. La mayoría de las cepas hidroliza el almidón, la caseína y la gelatina. El crecimiento y la multiplicación de las células vegetativas ocurren de temperaturas de 10-48 °C, mientras que el crecimiento óptimo se da entre 28-35 °C.

Figura 12. Colonias de *Bacillus sp* en agar nutritivo.
Fuente: Cuervo, 2010

Sin embargo, se han identificado variantes psicotrópicas de *Bacillus cereus* en leche cruda y pasteurizada capaces de crecer e iniciar la descomposición a temperaturas tan bajas como 5 °C. El pH óptimo de crecimiento se encuentra entre 4,3 y 9,3. Cuando carecen de nutrientes esporulan, lo cual le permite sobrevivir largos períodos de carencia nutricional, las esporas resisten una serie de factores ambientales como altas temperaturas en leche descremada hasta 3 min a 121 °C en aceite vegetal hasta 30 min, 95 °C en agua destilada de 1,5-36 min radiaciones y reactivos químicos.[36]

Figura 13. Colonias sospechosas de *Shigella* crecidas en Agar Salmonella-Shigella.
Fuente: Escobar, 2015

Shigella spp: El género *Shigella* está compuesto por cuatro especies: *Shigella sonnei, Shigella flexneri, Shigella boydii y Shigella dysenteriae.*

Son enterobacterias inmóviles gramnegativos no forman esporas, son anaerobios facultativos, tienen forma de bacilos, no fermentan la lactosa rápidamente, pero si otros carbohidratos, no producen H_2S ni desaminasas, las colonias sospechosas de *Shigella cr*ecidas en Agar Salmonella-Shigella son transparentes, translúcidas u opacas y suelen ser lisas (Ver figura 13).[16]

Para tener un panorama más grande con respecto a las diferentes bacterias patógenas que se pueden encontrar durante la manipulación de alimentos (Ver tabla 2).

Tabla 2. Principales patógenos transmitidos por la manipulación de alimentos

Patógeno	Conceptos básicos	Fuentes	Síntomas	Incubación	Duración
Campylobacter jejuni	Causa más común de diarrea de origen bacteriano en Estados Unidos. Los niños menores de 1 año tienen la tasa más alta de infecciones por *Campylobacter* , Además, el plazo para buscar asistencia médica para los bebés es bajo.	Leche cruda, agua no tratada, carne de res, pollo o pescados crudos y que no estén bien cocidos.	Diarrea (en algunos casos, con sangre), calambres estomacales, fiebre, dolores musculares, dolor de cabeza y náuseas.	Por lo general, entre 2 y 5 días después de consumir comida contaminada.	2 a 10 días
Clostridium botulinum	Puede encontrarse en comida húmeda y con poco ácido. Produce una toxina que provoca el botulismo. El botulismo infantil es	Alimentos enlatados y preparados en el hogar, alimentos envasados al vacío y envueltos en forma hermética,	Sequedad en la boca, visión doble seguida de náuseas, vómitos y diarrea. Después pueden aparecer estreñimiento,	12 a 72 horas después de consumir comida contaminada. En los bebés 3 a 30 días.	La recuperación puede durar entre 1 semana y

	producido por el consumo de estas esporas, que crecen en los intestinos y liberan toxinas.	productos derivados de carne de res, pescados y mariscos, y aceites de cocina con hierbas.	debilidad, parálisis muscular y problemas para respirar.		un año entero.
Clostridium perfringens	Produce esporas resistentes al calor, que pueden crecer en alimentos que no están bien cocidos o que quedan fuera del refrigerador a temperatura ambiente.	Carne de res y productos derivados de ella.	Dolor abdominal, diarrea y, en algunos casos, náuseas y vómitos.	8 a 16 horas después de consumir comida contaminada.	1 día o menos
Escherichia coli ***(E. coli)* patogénica**	Grupo de bacterias que puede producir diversas toxinas mortales.	Carne de res (hamburguesas que no estén bien cocidas o crudas), productos frescos no cocidos, leche cruda, jugo sin pasteurizar y agua contaminada.	Calambres estomacales agudos, diarrea con sangre y náuseas. También puede manifestarse como una diarrea sin sangre o ser asintomática. Puede provocar daños permanentes en los riñones, los cuales pueden producir la muerte en niños pequeños.	Normalmente 3 a 4 días después de la ingestión, pero se puede producir entre 1 y 10 días después de consumir comida contaminada.	5 a 10 días
Listeria monocytogenes	Puede crecer lentamente a temperaturas de refrigerador.	Alimentos refrigerados, listos para consumir (carne de res, pollo, pescados y mariscos, y lácteos, leche	Fiebre, dolor de cabeza, cansancio, dolores musculares, náuseas,	9 a 48 horas después de la ingestión, pero se puede producir	Varia

	Listeria puede causar la muerte en mujeres embarazadas, fetos y recién nacidos.	sin pasteurizar y productos lácteos o alimentos elaborados con leche sin pasteurizar).	vómitos, diarrea, meningitis y abortos espontáneos.	hasta 6 semanas después de consumir comida contaminada.	
Norovirus **(Virus del tipo Norwalk)**	Puede ser el causante de un gran porcentaje de las enfermedades no bacterianas transmitidas por los alimentos.	Ostras/mariscos crudos, ensalada de repollo, productos horneados, glaseados, agua contaminada y hielo	Diarrea, náuseas, vómitos, calambres estomacales, dolor de cabeza y fiebre.	24 a 48 horas después de la ingestión,	1 a 3 días
Salmonella **enteritidis**	Infecta los ovarios de gallinas aparentemente saludables e infectar internamente los huevos antes de que sean puestos.	Huevos crudos o que no estén bien cocidos, carne de res, pollo, pescados y mariscos crudos, leche cruda, productos lácteos y productos frescos.	Diarrea, fiebre, vómitos, dolor de cabeza, náuseas y calambres estomacales. Los síntomas son más graves en grupos en riesgo, como mujeres embarazadas	12 a 72 horas después de consumir comida contaminada.	4 a 7 días
Salmonella typhimurium	Algunas cepas de esta bacteria, como, por ejemplo, la DT104, son resistentes a varios antibióticos.	Carne de res, pollo, pescados y mariscos crudos, leche cruda, productos lácteos y productos frescos.	Diarrea, fiebre, vómitos, dolor de cabeza, náuseas y calambres estomacales. Los síntomas son más graves en grupos en riesgo, como mujeres embarazadas	12 a 72 horas después de consumir comida contaminada.	4 a 7 días
Shigella	Se transmite fácilmente de persona a persona a través de la comida, como consecuencia de	Ensaladas, productos lácteos, ostras crudas, carne molida de res,	Diarrea, fiebre, calambres estomacales, vómitos y	1 a 2 días después de consumir comida contaminada.	5 a 7 días

	una higiene deficiente, especialmente por lavarse mal las manos.	pollo y agua sucia.	deposiciones con sangre.		
Staphylococcus aureus	Es transferida a la comida por las personas como consecuencia de una higiene deficiente, especialmente por lavarse mal las manos. Cuando se desarrolla en la comida, produce una toxina que causa la enfermedad.	Productos lácteos, ensaladas, masas rellenas con crema y otros postres, comidas con alto contenido proteico (jamón cocido, carne de res y pollo crudos),	Náuseas, calambres estomacales, vómitos y diarrea.	Normalmente rápida: entre 1 a 6 horas después de consumir comida contaminada.	24 a 48 horas
Vibrio cholerae	Se presenta naturalmente en ambientes de estuario (donde se mezclan el agua dulce de los ríos con el agua salada del océano). Causa cólera y la muerte si no es tratada.	Pescados y mariscos crudos o que no estén bien cocidos, u otros alimentos y agua contaminados.	Algunas personas presentan diarrea grave, vómitos y calambres en las piernas. Pérdida de fluidos corporales.	6 horas a 5 días después de consumir comida contaminada.	3 a 7 días
Vibrio parahaemolyticus	Vive en agua salada y provoca enfermedades gastrointestinales en los seres humanos.	Pescados y mariscos crudos o que no estén bien cocidos.	Diarrea, calambres estomacales, náuseas, vómitos, dolor de cabeza, fiebre y escalofríos.	4 a 96 horas después de consumir comida contaminada.	2 a 5 días
Vibrio vulnificus	Vive en agua de mar cálida. Puede provocar infecciones en personas que consumen pescados y mariscos contaminados o que tienen una herida abierta	Pescados y mariscos crudos, en especial, ostras crudas.	Diarrea, dolor de estómago, náuseas, vómitos, fiebre y escalofríos repentinos. Algunas víctimas desarrollan llagas en las piernas	1 a 7 días después de consumir comida contaminada o de la exposición al organismo.	2 a 8 días

	expuesta al agua de mar.		semejantes a ampollas.		
Yersinia enterocolitica	Provoca yersiniosis, una enfermedad que se caracteriza por diarrea o vómitos.	Carne de res y pescados y mariscos crudos, productos lácteos, productos frescos y agua no tratada.	Fiebre, diarrea, vómitos y dolor de estómago. Información que debe conocer: Los síntomas pueden ser graves en los niños.	1 a 2 días después de consumir comida contaminada.	1 a 3 semanas

Fuente: FDA, 2018

6. RECUENTO DE MICROORGANISMOS INDICADORES

La calificación de coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y alimentos. Donde el representante más importante desde el punto de vista sanitario es *Escherichia coli.*

6.1 CARACTERES BIOQUÍMICOS

a) Aerobias o anaerobias facultativas.
b) Gramnegativas.
c) No esporógenas (no esporulan).
d) Fermentan la lactosa a 35°C en 48 horas.

6.2 HÁBITAT

Los microorganismos de este género se localizan principalmente en el intestino de los seres humanos y animales, están distribuidas en la naturaleza.[26]

Los coliformes se integran al medio ambiente por la materia fecal de los seres humanos y animales. Aunque también podemos encontrar coliformes de vida libre. Los coliformes se encuentran en mayor concentración en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo.

Se les considera como indicadores de contaminación fecal para el control de calidad del agua para el consumo humano ya que, en los medios acuáticos los patógenos intestinales son más resistentes y dado a que su origen es principalmente fecal. La ausencia de estos indica que el agua es segura para su consumo, su porcentaje en el

agua es proporcional al grado de contaminación fecal; entre más coliformes se encuentren en el agua, mayor será la gravedad de la descarga de heces, por ende, la elevación de incidencias de patologías entéricas.

Por su amplia diversidad estos han sido divididos en dos grupos: coliformes totales y coliformes fecales.[48]

a) **COLIFORMES TOTALES:** Se llegan a utilizar para comprobar la calidad bacteriológica de los sistemas de tratamiento de agua. Son bacilos gramnegativos que corresponden a la familia Enterobacteriaceae y se consideran lactosa positiva, forman un género de bacterias que se definen por los test usados para su aislamiento que, por criterios taxonómicos, su característica principal es el fermentar lactosa, producir ácido y gas, su temperatura de incubación tiene que ser de 30° a 35°C durante 24 a 48 horas.[27]

b) **COLIFORMES TERMOTOLERANTES:** Las bacterias coliformes fecales son consideradas bacilos gramnegativos, no esporulados los cuales usan la lactosa, producen gas a 44.5 °C ± 0.2 °C dentro de las 24 ± 2 horas, la principal especie es *Escherichia coli.*

El encontrar coliformes fecales en el abastecimiento de agua es la principal sospecha de que el agua puede estar infectada con aguas negras u otro tipo de desechos.[27]

Los géneros bacterianos que representan a los coliformes totales son:

1. *Escherichia* spp.
2. *Klebsiella* spp.
3. *Enterobacter* spp.
4. *Citrobacter* spp.

6.3 BACTERIAS MESOFILICAS AEROBIAS

Son todas aquellas bacterias competentes para su desarrollo a 30°C, también pueden realizarlo en rangos más amplios de temperaturas inferiores y e incluso mayores a 30°C, La palabra mesófilas indica que son afines a una temperatura media (30-37°C) y la palabra aerobios que estos microorganismos dependen del oxígeno.

El cálculo de estos microorganismos nos indica el grado de contaminación que tiene una muestra, verificar la efectividad de los procedimientos de limpieza y desinfección. Se realiza a partir de diluciones decimales de la muestra, que se inoculan en placas vertidas en Agar cuenta Estándar, las placas se inoculan en condiciones de aerobiosis a una temperatura de 35°C durante 24 a 48 horas.es importante aplicar las reglas

indicadas en la NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Bacterias Aerobias en Placa[45]

7. SUPERVIVENCIA DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS MANOS

Se puede observar en la tabla hay una gran cantidad de estudios que demuestran el tiempo que sobreviven algunos microorganismos en las manos en un tiempo determinado (Ver tabla 3).

Estos estudios expresan que las manos contaminadas son el vehículo para la transferencia de bacterias, la contaminación llega a ser semejante en manos con guantes o sin ellos, usar los guantes disminuye la contaminación de las manos, pero no da protección al cien por ciento de la adquisición de microorganismos al manipular alimentos, por lo tanto, si los guantes están contaminados se puede dar la contaminación cruzada.[53]

Tabla 3. Supervivencia de microorganismos en las manos

AUTOR	**MICROORGANISMO**	**INOCULACION**	**TIEMPO DE SUPERVIVENCIA**
Musa et al. (2000)	*Acinetobacter calcoaceticus var. anitratus* *Acinetobacter calcoaceticus var. Lwolffii*	Dedos	60 minutos
		Fornica	24 hrs más tarde todas las cepas. 60 hrs más tarde dos de las 3 cepas.
Fryklund et al. (2000)	*Escherichia coli* *Klebsiella spp.*	Dedos	*E. coli:* 6 min. *Klebsiella:* 2 min.
		Superficie de vidrio	*E. coli:* 15 min. *Klebsiella*: 8 min.
Noskin et al.(2003)	*Enterococcus* resistentes a vancomicina. (*Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium*)	Dedos Manos enguantadas	60 min.
		Superficies del medio ambiente (mostradores, barandillas, teléfonos)	Mostradores: *E. fecalis*: 5 días *E. faecium*: 7 días Barandillas:24 hrs. Teléfonos:60 min.
Islam et al. (2006)	*Shigella dysenteriae* tipo 1	Manos	1 hora
	Pseudomonas aeruginosa		30 min. (solución salina)

Doebbeling et al. (2008)	*Burkholderia cepacia*	Manos	180 min. (suspendida en esputo)

Fuente: Toribio, 2010.

8. TECNICAS PARA REALIZAR LA HIGIENE DE MANOS

Podemos encontrar distintas técnicas para el lavado de manos:

- Lavado de manos: con jabón simple y agua.
- Antisepsia higiénica de manos: elaborada con preparados con base alcohólica.
- Antisepsia prequirúrgica de las manos:
    a) Antisepsia mediante el lavado con jabón antiséptico y agua.
    b) Antisepsia por fricción con preparados de base alcohólica.

Es de gran importancia que se realice de forma correcta para evitar infecciones, ejecutar la técnica adecuada es fundamental para lograr una buena higiene, hay estudios que demuestran que los manipuladores de alimentos suelen realizar una incorrecta técnica de higiene de manos, en donde solo ponen cuidado a las palmas de las manos dejando de lado yemas de los dedos, dorso de las manos y pulgares, al mismo tiempo de que las personas diestras al realizar la higiene de manos la mayor parte de las veces la higiene de la mano derecha es menos efectiva que la de la mano izquierda.[53]

Sin embargo, algunas de las investigaciones sobre la técnica del lavado de manos son limitada, las sugerencias están fundadas en la opinión de especialistas, derivan que son componentes clave en la higiene de las manos.

- Duración del procedimiento.
- Contacto con el producto usado en todas las partes de las manos y muñecas.
- Realizar frotación con el producto.
- El enjuague debe ser meticuloso.
- Al terminar la técnica debemos corroborar que las manos se encuentran secas.[53]

8.1 HIGIENE DE MANOS CON AGUA Y JABON SIMPLE

Se realiza cuando:

1. Las manos se encuentran perceptiblemente sucias.
2. Se estuvo en contacto con sangre o fluidos corporales.
3. Existe un brote de Norovirus, *Clostridium difficile* u otras bacterias que causen enfermedades diarreicas.

La higiene de las manos es el elementos más significativo que favorecen a la eliminación de los microorganismos transitorios.[53]

Tabla 4. Materiales para higiene de manos con agua y jabón simple.

PRODUCTO	Jabón líquido simple (no antiséptico)
CANTIDAD	Según lo recomendado por el fabricante
DURACION DEL PROCEDIMIENTO	40 a 60 segundos

Fuente: Toribio, 2010.

REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA

- **PASOS PREVIOS**
  1. Se deben quitar las joyas de manos y antebrazos, si se usa reloj debe estar bien ajustado y encima de la muñeca.
  2. Se deben quitar prendas de vestir que obstaculicen la ejecución constante y eficaz del lavado de manos.
- **EJECUCION**
  1. Mojar las manos con agua.
  2. Aplicar bastante jabón.
  3. Se frotarán todas las zonas de las manos durante 15 segundos, para la eliminación de la flora transitoria.
  4. Se debe tener especial cuidado en las zonas de los dedos, entre los dedos, el dorso de las manos y la base de los pulgares.
  5. Aplicando un movimiento de frotación, enjuagar el jabón de las manos. Los restos de jabón pueden provocar sequedad y agrietamiento de la piel.
  6. Secar totalmente las manos con papel desechable previniendo el uso de fricción intensa ya que el uso de fuerza excesiva puede dañar la piel.
  7. Para evitar que las manos se contaminen nuevamente se debe cerrar el grifo con papel desechable.[53]

8.2 HIGIENE DE MANOS CON PREPARADOS DE BASE ALCOHÓLICA

Los preparados de base alcohólica matan a la flora contaminante y una pequeña parte de la flora normal, logrando acción microbiana residual, los preparados son la primera

elección para la higiene de manos en entornos clínicos con excepción de los casos siguientes:

1. Si las manos se encuentran perceptiblemente sucias, la eficacia es inhabilitada por la presencia de materia orgánica.
2. La persona presenta vómito y/o diarrea.
3. Existe contacto directo con fluidos corporales si no se han usado guantes durante las técnicas en los cuales deberían usarse.
4. Existe un brote de Norovirus, *Clostridium difficile* y otras enfermedades diarreicas.[53]

Tabla 5. Materiales para higiene de manos con preparados de base alcohólica

PRODUCTO	Preparado de base alcohólica
CANTIDAD	Según lo recomendado por el fabricante, generalmente 3 mL.
DURACION DEL PROCEDIMIENTO	De 20 a 30 segundos.
OBSERVACIONES	Las manos deben estar completamente secas antes de iniciar el procedimiento.

Fuente: Toribio, 2010

REALIZACIÓN DE LA TÉCNICA

- **PASOS PREVIOS**
  1. Se deben quitar las joyas de manos y antebrazos, si se usa reloj debe estar bien ajustado y encima de la muñeca.
  2. Se deben quitar prendas de vestir que obstaculicen la ejecución constante y eficaz del lavado de manos.
- **EJECUCIÓN**
  1. Se colocará 1-2 aplicaciones del producto en la mano (3mL)
  2. El producto se extenderá sobre ambas manos, teniendo cuidado a los dedos, entre los dedos, el dorso de las manos y en la base de los pulgares.
  3. El producto será frotado en las manos hasta que seque completamente.

La higiene de manos correcta con un preparado de base alcohólica se garantiza cuando las manos se encuentras totalmente secas antes de tocar algún objeto.[53]

9. PROBLEMAS PRÁCTICOS PARA LA ÓPTIMA HIGIENE DE MANOS

9.1 ESTADO DE LA PIEL

El tener problemas en la piel como dermatitis, grietas, cortes o abrasiones, puede provocar que los microorganismos se hospeden en la piel y que comprometan la higiene de las manos, la dermatitis incrementa la liberación de escamas y, por lo tanto, el liberación de bacterias.

Un problema común para el desempeño de las recomendaciones sobre la higiene de manos son los efectos adversos de los productos usados en especial cuando se habla de jabones. Los problemas cutáneos relacionados con la higiene de manos se dan por “Dermatitis de contacto irritante”.

Otros elementos que favorecen a la dermatitis asociada al lavado de manos son:

- Usar agua caliente para el lavado de manos.
- La baja humedad, la cual llega a ser común en invierno.
- El poco uso de humectantes de manos.
- La cantidad de toallas desechables.
- La fuerza aplicada al usar y el retirar guantes.
- La alergia que se da al usar guantes de látex.

Por lo tanto, fomentar el cuidado de la piel a través de la buena higiene de manos, el uso de los productos adecuados y la enseñanza sobre los métodos adecuados para la higiene de manos es importante para la seguridad de las personas.

Los preparados de base alcohólica causan menos daño en la piel que el agua y el jabón. Si una persona llega a sentir ardor posterior a la aplicación de los preparados de base alcohólica, debe comprobarse la irritación cutánea, la dermatitis alérgica de contacto relacionada con los preparados de base alcohólica se da muy pocas veces y suele ser ocasionada por la presencia de fragancias y conservadores.

Investigaciones recientes han mostrado que el uso de los preparados de base alcohólica que están compuestos por emolientes produce una mejora de la dermatitis de contacto irritante en aproximadamente un 70% de los afectados.[53]

9.2 USO DE JOYAS

Se ha confirmado que la piel bajo los anillos llega a estar más poblada que las mismas zonas de la piel en los dedos que no tienen anillos.

De acuerdo con Hoffman (2002) el 40% de las personas llegan a alojar bacilos gramnegativos como, por ejemplo: *Enterobacter cloacae, Klebsiella spp, y Acinetobacter spp* en la piel que está debajo de anillos y se menciona que algunos de los empleados llegaron a portar durante meses la especie bacteriana bajo sus anillos.[20]

Los problemas con la higiene de las manos relacionadas con las joyas son:

- Las joyas llegan a ser difíciles de limpiar, estas pueden esconder diferentes microorganismos.
- Los anillos incrementan la cantidad de microorganismos presentes en las manos.
- Pueden ocasionar lesiones cutáneas.[53]

9.3 UÑAS

El área subungueal hospeda una gran cantidad de bacterias de las cuales con mayor frecuencia podemos hallar *Staphylococcus c*oagulasa negativo, bacilos gramnegativos (incluidos *Pseudomonas spp*) *Corynebacterium spp* y algunas levaduras.[53]

9.4 SECADO DE MANOS

Cuando las manos están húmedas adquieren con mayor facilidad microorganismos, el secado de las manos está asociado con la transferencia de bacterias por contacto cruzado posteriormente del lavado de manos. El secado de manos debe realizarse con toallas de papel desechables o secadoras de manos que demuestren que no originan aerosoles de agentes patógenos, es importante que se evite el reutilizarlas o el compartirlas para evitar el riesgo de infección cruzada.[53]

10. MARCO DE REFERENCIA

Las manos se han considerado como el vehículo habitual para la trasmisión de infecciones; por lo que es importante que las personas comprendan lo importante que es el lavado de manos ya que durante el día las manos están en contacto con diferentes objetos: como los pasamanos de los autobuses, dinero, alimentos, mascotas, basura, etc., esto provoca que se infecten y sean el trasporte de microorganismos.

Corrales y col. (2008) realizaron una investigación enfocada a detectar la presencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en 40 muestras de guantes y manos de los trabajadores en Cundinamarca, Colombia, donde obtuvieron caldos nutritivos con flora mixta, la morfología encontrada tenia cocos grampositivos, bacilos gramnegativos y bacilos grampositivos. Las muestras con bacilos gramnegativos se aislaron en placas de agar Mac Conkey, Endo y XLD, donde se identificaron las características macroscópicas, verificación pureza y prueba de oxidasa, según el caso, añadiendo pruebas bioquímicas.[7]

Alba (2014) realizó un estudio similar en donde analizo muestras de aire, superficies y manos de los trabajadores de los departamentos de salud del META en Bogotá, Colombia: este estudio se realizó para evaluar los contagios intrahospitalarias ya que son consideradas un problema de salud pública, están asociadas no solo al aumento de la mortalidad y morbilidad, sino también a que los costos hospitalarios se ven en aumento, el ejemplo de la incidencia mundial va del 3 a 17%, aunque llega a variar según el servicio prestado, a la práctica de las medidas básicas y generales para prevención y el controlar los contagios, por parte del personal de salud, pacientes y visitantes, tales como el lavado de manos, aislamiento, uso de técnica aséptica, limpieza y desinfección, esterilización y salud laboral.

De acuerdo con la norma ISO 14698-1, gran parte de las instituciones prestadoras de salud, se observa la poca información con la que llegan a contar, la evaluación microbiológica del entorno hospitalario en cuanto a la eficiencia de los procesos de limpieza y desinfección de superficies horizontales, asepsia de manos del personal asistencial y calidad del aire.[1,41]

Coelho y col. (2011) en un proyecto ejecutado en el Hospital Universitario Antonio Pedro, usando un grupo de 50 miembros del departamento de enfermería den un rango de edad de 26-45 años, informo que el 98% de los estos cumplían con el lavado de manos y 2% lo realizaban “a veces”.[6]

Ovejero (2011) valoró el apego a la correcta higiene de manos de los miembros del personal de Salud en Argentina, donde la primera observación fue de aproximadamente el 22%[33]

En un grupo de 120 estudiantes de secundaria en Murcia, España, se analizaron las muestras de las manos antes de ingresar al laboratorio de química encontrando halos de inhibición provocados por el antibiótico sobre una cepa de *Bacillus* spp., después de la incubación a temperatura ambiente durante 48 horas. Insinúa que la higiene de manos debe realizarse con agua y jabón en abundancia. Con la información obtenida es evidente que las bacterias se pueden encontrar frecuentemente en cualquier lugar, por ejemplo: el césped.[23]

Tapia y col. (2011) realizaron una comparación entre los químicos usados para el lavado de manos en 30 alumnos universitarios de la Ciudad de México: donde la higiene de manos con cloruro de benzalconio, yodopovidona y clorhexidina-alcohol, en un lapso de 7 días entre cada evento. Después de la limpieza prequirúrgica se obtuvieron muestras para cultivos de palmas de manos y del lecho ungueal, y después de usar guantes estériles por 30 minutos; se consideró el precio de los productos usados y el tiempo de cada tipo de lavado. Se hallaron diferencias importantes en el número de UFC/mL a favor de los que usaron clorhexidina-alcohol y yodopovidona en comparación con quienes solo usaron cloruro de benzalconio. No se encontró ninguna diferencia entre clorhexidina-alcohol y yodopovidona. Los precios fueron más elevados para yodopovidona y cloruro de benzalconio vs clorhexidina-alcohol. El tiempo empleado al usar yodopovidona y cloruro de benzalconio fue semejante y en cuanto a la clorhexidina-alcohol fue alrededor de 5 veces menor.

Algunos señalan que el lavado de manos quirúrgico con cepillo es igual de efectivo que cuando se realiza sin cepillo en lo que respecta a disminuir la carga microbiológica superficial cutánea de los trabajadores del departamento de Salud, en el área de operación. Aunque es significativo indicar que la técnica sin cepillo reduce la lesión en las capas profundas de la piel, lo que influye en la reducción del riesgo de infección de la herida quirúrgica, esto refleja que el efecto bactericida de la clorhexidina-alcohol es más relevante en comparación con el cloruro de benzalconio y equivalente al de la yodopovidona, en menor precio y tiempo para su aplicación.[52]

Méndez y col. (2012) desarrollaron una investigación para comprobar la resistencia ante antibióticos considerando nariz, boca y manos: en un grupo de 100 mujeres (64.5%) y 55 hombres (35.5%) en Bogotá, Colombia, examinaron muestras de estudiantes de medicina (n= 155) en transiciones de 3 semanas, tomando con hisopos

muestras de nariz, boca, manos y fonendoscopio, sembrados en agar sangre, incubados por 24 horas a 37°C y 5% de CO2. Hallaron alta frecuencia de bacterias patógenas, con mayor frecuencia de *Staphylococcus aureus* en 41.7% y resistencia a antibióticos por grampositivos y gramnegativos; por lo que deben introducirse estrategias que minimicen la transferencia de los microorganismos dependencias educativas, por lo que es importante que se evalué de forma insistente la higiene de los individuos para evitar bacterias patógenas.[25]

Almeida y Correa (2012) estudiaron muestras aisladas en manos de niños en etapa escolar en una unidad de internación en Colombia en donde demostraron que el 98% de las muestras correspondían a aislamiento de *Staphylococcus* coagulasa negativa (64%), *Staphylococcus aureus* (5%), y *Pseudomonas aeruginosa*, (1%) donde el portador en la población pediátrica tiene gran impacto en las medidas de salud implementadas. Su teoría de higiene de manos es considerada una medida individual sencilla y económica para evitar infecciones asociadas con la salud en personas de edad escolar.[2]

Un estudio similar realizado en manos de socias en contacto con alimentos en zonas de comida populares del distrito de Juliaca, Perú. Se realizó para hacer conciencia sobre las medidas de higiene en la preparación de alimentos relacionada con la carga microbiana. Donde las principales organizaciones proporcionan alimentación a la población urbana marginal. Los Comedores Populares son parte de programas sociales para la lucha contra la pobreza extrema, como una estrategia política para el cumplir con los Objetivos de Desarrollo del Milenio (ODM), donde el primer objetivo es el eliminar la pobreza extrema y el hambre, el cual tiene como una de sus metas llevar a menos del valor total de las personas que padezcan hambre.[55]

Villalobos y Mendoza (2015) exponen que el lavado constante de las manos ayuda a la prevención y a la disminución de la transmisión de padecimientos: a partir de las muestras que trabajaron obtuvieron *S. aureus* en personal de la estancia infantil de Guanajuato, México. En deferentes entornos se investigó a los manipuladores de alimentos, los cuales son los que intervienen en la elaboración de alimentos o que están en contacto con la materia prima durante cualquier etapa de la preparación de alimentos, desde la producción hasta la entrega. Uno de los riesgos de mayor importancia en la contaminación de alimentos implica a los trabajadores ya que puede actuar como vector de los microorganismos. Los manipuladores estudiados, ya que no importa si son consideradas personas sanas, son considerados como un vehículo

importante de microorganismos capaces de provocar padecimientos en las personas que consuman el alimento.[57]

García y col. (2016) realizaron la identificación del desarrollo microbiológico en manos de alumnos universitarios en el área de ciencias de la salud: El proyecto tuvo como propósito identificar el crecimiento bacteriano en muestras de palmas de manos en los alumnos de la Universidad del Valle de México, Campus Villahermosa. Donde consiguieron desarrollo de microorganismos en las palmas de las manos de 33 alumnos (50%) y sin crecimiento de microrganismos en una cantidad parecida (50%). Los alumnos con desarrollo de microorganismos 9 eran del área de Medicina, 1 de Enfermería, 7 de Nutrición y 16 de Químico Farmacéutico-Biotecnólogo. Los microorganismos encontrados en las manos de los alumnos fueron: 14 con *Escherichia coli* (26.9%), 9 con *Bacteroides* (17.3%), 9 con *Proteus* (17.3%), 8 con *Shigella* (15.3%), 4 con *Streptococcus* (7.84%), 3 con *Pseudomonas* (5.76%), 2 con *Staphylococcus* y *Klebsiella* (3.84%) y un caso de *Clostridium* (1.92%).[19]

En el comedor infantil de la Universidad de Oriente se analizaron a 60 manipuladores de ambos sexos; 30 de un comedor estudiantil, 12 de una estancia municipal, y 18 de una estancia hospitalaria de la ciudad de Cumaná, que se localizaban durante su hora de trabajo al momento de ser tomadas las muestras: una de las fosas nasales, otra de la mano de uso predominante (derecha) y una de heces, bajo instrucciones previas de recolección. Los resultados de la investigación fueron: *Enterobacter cloacae* y *Escherichia coli* los más frecuentes en las muestras de manos y heces.[23]

11. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El inconveniente de los contagios y la importancia de la higiene de manos causan afectaciones a cientos de millones de personas en el mundo, esto provoca inconvenientes para mantener la seguridad del comensal. En sí, las infecciones están relacionadas con los sistemas y procesos de prestación de servicios, así como con las limitaciones políticas y económicas de los sistemas de salud con los que cuentan los países. También reflejan el comportamiento humano condicionado por numerosos factores, incluida la EDUCACIÓN. Sin embargo, la adquisición de la infección y, en particular la infección cruzada de un manipulador de alimentos a un comensal, en varios casos se pueden evitar mediante prácticas de higiene. La higiene de manos es considerada como la principal medida necesaria para reducir infecciones. Aunque la acción de la higiene de las manos es simple, la falta de cumplimiento entre los manipuladores de alimentos continúa siendo un problema en todo el mundo. Para contribuir a la resolución de este problema es necesario contar con los datos que permitan registrar y documentar los casos de infecciones hospitalarias y comunitarias. Para llevar a cabo esto se necesita identificar la situación actual de la práctica la higiene de manos frente a la presencia de enfermedades y su respectiva asociación. La importancia de la higiene de manos en el área de gastronomía ha quedado probada en numerosas ocasiones, siendo uno de los puntos clave para controlar las contaminaciones cruzadas y evitar que las bacterias lleguen a los alimentos. Las manos de los preparadores de alimentos son la principal fuente de contaminación cruzada. Se trata de una contaminación cruzada indirecta, ocasionada por la transmisión de bacterias a los alimentos por medio del personal y de los equipos usan en los procesos de elaboración, que son los dos vehículos más frecuentes de transferencia de bacterias a los alimentos. Aunque a simple vista no se puedan detectar, las bacterias se encuentran en las manos, en las superficies y en los utensilios, y es por eso que hay que impedir continuamente, usando buenas prácticas de trabajo, que se desarrollen hasta llegar a niveles que se consideren peligrosos para la salud o para la conservación de los alimentos. Con el fin de prevenir este tipo de contaminaciones es muy importante que el personal que trabaja con alimentos siga las normas de higiene personal y cuente con buenas prácticas higiénicas al momento de la manipulación.

12. JUSTIFICACIÓN

La higiene de los alimentos son prácticas realizadas al manipular los alimentos para mantenerlos limpios y sanos con el fin de evitar enfermedades.

La infección por alimentos es causada por bacterias patógenas como *Salmonella, Campylobacter, Clostridium perfringens* donde los síntomas típicos de la infección pueden darse de 1 – 72 horas después de haber consumido el alimento contaminado dentro de los más comunes tenemos diarrea, dolor abdominal, fiebre, vómito y náuseas.

Las personas infectadas se recuperan luego de unas semanas, pero esta forma de infección alimentaria si no es tratada adecuadamente puede causar la muerte.

En nuestro país se pueden encontrar una gran variedad de hábitos con respecto a los alimentos, son muy variados los métodos usados para cocinar, conservar y almacenar alimentos, es por ello por lo que la actitud de los compradores hacia la importancia de la higiene de los alimentos depende mucho de su preocupación y alimentación, así como de su nivel económico.

La salud de las personas se encuentra amenazada por un ambiente inseguro debido a la mala manipulación de utensilios, alimentos conservados y almacenados incorrectamente, por el consumo de agua insegura o de origen desconocido, mal manejo de la basura e inadecuada higiene tanto de los locales como de los manipuladores de alimentos.

Ya que con los alimentos no se tiene el cuidado necesario al momento de la recepción de la mercadería por lo general, estos al momento de recibirlos son colocados en el piso, mezclados unos con otros; las frutas y vegetales no son lavados adecuadamente y la mayoría de las veces son manipulados con las manos sucias y directamente servidos a la mesa del comensal provocando una contaminación a la que no le dan la importancia que debería, donde están causando perjuicio sin saberlo a las personas que lleguen a consumir dicho alimento ocasionándoles daño en su salud.

Por lo que nos planteamos la siguiente pregunta científica

¿SON LAS MANOS LA PRINCIPAL FUENTE DE CONTAMINACIÓN EN LA PREPARACIÓN DE LOS ALIMENTOS?

13. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Identificar los diferentes géneros y especies de bacterias que se pueden encontrar en manos de estudiantes de la Licenciatura de Gastronomía de una Universidad Pública.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Aislar los diferentes géneros y especies bacterianas presentes en las manos de los alumnos de la Licenciatura de Gastronomía
- Identificar los diferentes microorganismos encontrados en las muestras.
- Desarrollar estrategias educativas dirigidas al cambio de conducta en la aplicación de las normas de lavado de manos de los alumnos.

14. METODOLOGÍA

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

a) TIPO DE ESTUDIO

Prospectivo, transversal, observacional, descriptivo.

b) UNIVERSO DE TRABAJO

Se muestrearán las manos de 44 estudiantes de la Licenciatura de Gastronomía de una Universidad Pública.

c) CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Estudiantes de la Licenciatura de Gastronomía de la Universidad Pública.
- Muestra de manos de los estudiantes que no se hallan lavado previamente.

d) CRITERIOS DE EXCLUSION

- Estudiantes de otra licenciatura de la Universidad Pública.
- Muestra de manos de los estudiantes que se hallan lavado previamente.

e) PERIODO DE ESTUDIO

JULIO 2019 – OCTUBRE 2019

f) DISEÑO ESTADISTICO

Los resultados obtenidos de los muestreos serán analizados mediante estadística descriptiva por medio de tablas y gráficas, para así aplicar medidas de tendencia central como media, moda, mediana. Para poder identificar cual fue el microorganismo que tuvo mayor presencia en las manos de los alumnos.

g) RECURSOS FINANCIEROS

Recursos del Departamento de Microbiología, recursos de la Universidad Pública “Escuela de Gastronomía”, Asesores de tesis y de la Tesista.

h) RECURSOS HUMANOS

- D.E.D Ana Bertha Escobedo López.
- M.S.P María de la Cruz Meneses Sánchez.
- Tesista: Jenny Paola Morales Vázquez.
- Servicio Social y Practica Profesional del Departamento de Microbiología a cargo de la Profesora Ana Bertha Escobedo López.

i) LUGAR DE REALIZACION DEL TRABAJO

Laboratorio de Microbiología, Facultad de Ciencias Químicas.

MATERIALES

Tabla 6. Materiales usados durante todo el proyecto

MEDIOS DE CULTIVO	CALDOS	COLORANTES	OTROS
Agar Mac Conkey	Caldo Soya Tripticaseina	Cristal Violeta	Autoclave
Agar Sal y Manitol		Safranina	Paquetes de gasa estériles
Agar Rojo Bilis Violeta			Frascos para recolección de muestras
Agar Sangre de Carnero			MIicropipeta calibrada de 1mL
Agar Cuenta Estándar			Mecheros
			Portaobjetos/cubreobjetos
Pruebas Bioquímicas			Microscopio
			Cuentacolonias
			Solución Salina Isotónica
			Puntas estériles para la micropipeta
			Lugol
			Alcohol-cetona

Fuente: Diseño de Estudio

1. Toma de muestras

Entre los meses de Julio a Octubre de 2019 se recolectaron muestras de alumnos de la Licenciatura de Gastronomía de una Universidad Pública, los muestreos fueron programados en distintas semanas por cuestiones de logística. Se inició con el laboratorio de HAUTE CUISINE de donde se recolectaron las primeras 14 muestras de manos, el siguiente muestreo se obtuvo del laboratorio ESCOFFER donde se obtuvieron 15 muestras de manos y por último se recolectaron muestras del laboratorio COCINA BOULANGER donde recolectamos 15 muestras, los cuales cada vez que se realizaba dicho muestreo el procesamiento de las muestras se realizaba una hora después de ser tomadas tomando en cuenta la NOM-109-SSA1-1994[47].

El procesamiento de las muestras se realizó mediante los siguientes pasos (Ver Esquema de trabajo 1)

2. Primeras 24 horas

Se tomaban tres alícuotas de los frascos de diluyente de cada uno de los alumnos muestreados, cada una de 1mL de la solución salina isotónica que se encontraba dentro de los frascos de muestra que se ocuparon con los alumnos (Ver esquema de trabajo 2).

De los cuales una alícuota de 1mL era agregada a un tubo que contenía caldo soya tripticaseina, este se llevaba a la incubadora y se dejaba ahí de 18 a 24 horas.

La segunda alícuota era agregada a una caja Petri de 90x15ml para posteriormente se adicionaba agar cuenta estándar y se mezclaba hasta que quedara una solución homogénea, las placas se dejaban hasta que estuvieran todas gelificadas para posteriormente empaquetarlas y guardarlas en incubadora de 18-24 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se realizó el conteo de las colonias resultantes.

La última alícuota que se adicionaba en una caja Petri de 90x15ml para posteriormente agregarle agar rojo bilis violeta, esto se mezcla hasta obtener una solución homogénea, las placas se dejaban hasta que estuvieran gelificadas. Ya que todas las placas estaban completamente gelificadas se continuaba por verter nuevamente agar rojo bilis violeta para formar una segunda capa, después de agregada la segunda capa ya no se mezcla, solamente se espera a que nuevamente gelifique para posteriormente empaquetarlas y guardarlas en la incubadora de 18-24 horas. Transcurrido el tiempo predicho se podrá realizar el conteo de las colonias resultantes.

3. Estría cruzada

Pasadas las 24 horas de incubación se procede a realizar el conteo de colonias de las placas de agar cuenta estándar y de las placas de agar rojo bilis violeta haciendo uso de un cuenta colonias, después de ya haber evaluado cada una de las placas se desechan en una bolsa roja de RPBI.

Al terminar la evaluación de las placas se continua con la siembra en medios de cultivo donde se necesitó: caldos soya tripticaseina a los que se les agrego 1mL de las muestras obtenidas.

Primero se etiquetan las placas que se van a utilizar: Agar Sangre de Carnero, Agar Sal y Manitol, Agar Mac Conkey.

- Se toma el tubo de caldo soya tripticaseina y se homogeniza (esto se realizaba en cada uno de los tubos)
- Se esteriliza el asa bacteriológica que se va a ocupar antes de introducirla en el caldo, tomar el inoculo.

- Se procedió a inocular en los medios de cultivo usando la técnica de estría cruzada para cada una de las placas con la única diferencia de que en la placa de agar sangre de carnero se picaba en la zona donde se realizó el masivo para poder ver la hemolisis.
- Esta técnica se repite para cada uno de los tubos de caldo soya tripticaseina que se metieron a incubar.
- Ya que todas las placas han sido estriadas se empaquetarán y guardarán en la incubadora de 18-24 horas, excepto las placas de agar sangre de carnero ya que estas se meterán aparte porque requieren un 20% de CO_2.

4. Lectura de placas

Pasado el tiempo de incubación de los medios de cultivo, es momento de evaluar el tipo de crecimiento en cada una de las placas (Ver esquemas de trabajo 3-8).

- Se anotaron las características del crecimiento y el vire que provoco la bacteria en el medio de cultivo, así como el tipo de hemólisis que se dio en las placas de agar sangre de carnero
- Se les realizaron pruebas adicionales como catalasa, oxidasa, tinción de gram para su observación al microscopio.
- Se les realizaron pruebas bioquímicas únicamente a las muestras que se desarrollaron en agar Mac Conkey. Se inocularon las pruebas bioquímicas y se incubaron de 18-24 horas para posteriormente leer los resultados.

5. Lectura de resultados de pruebas bioquímicas

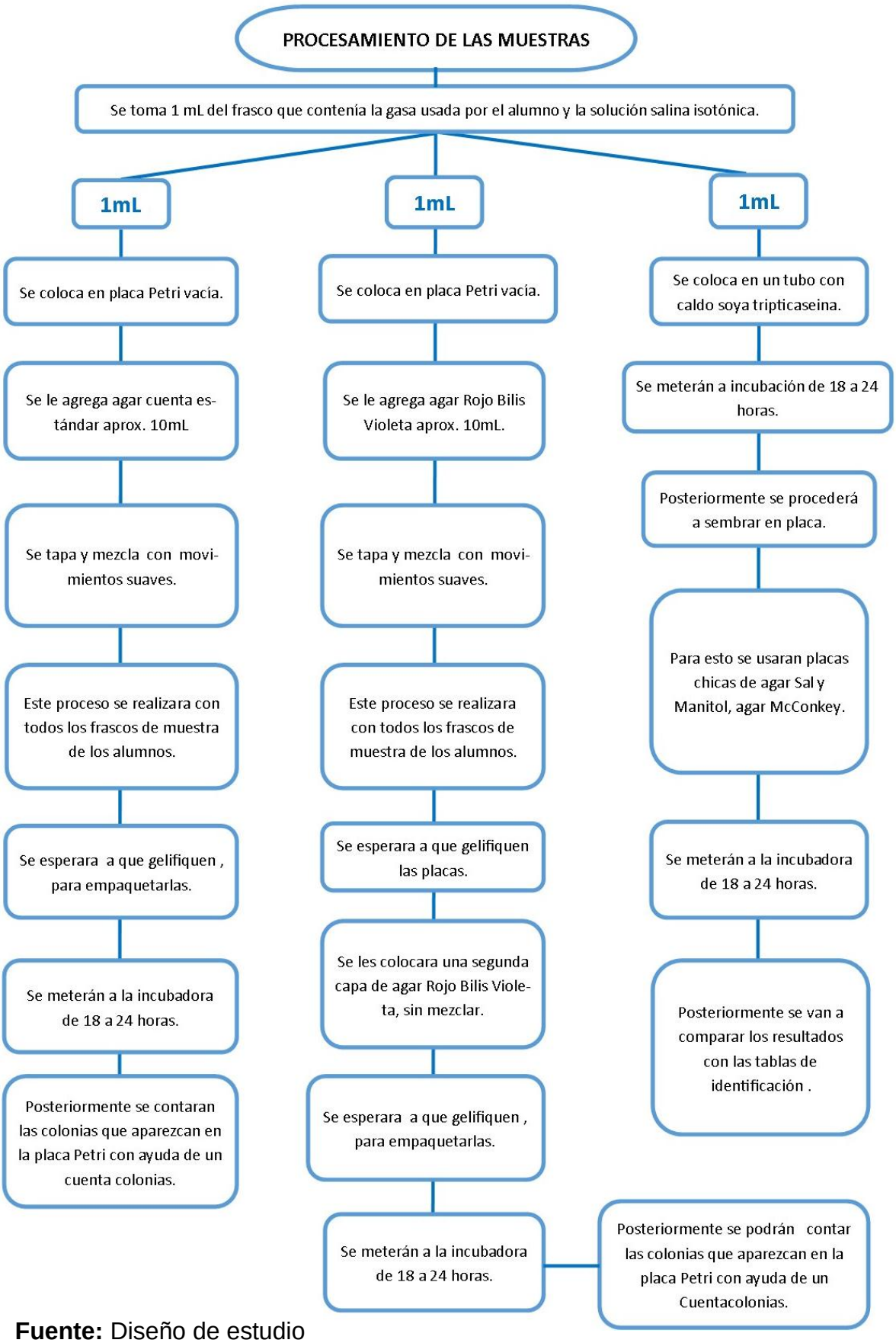
Ya que ha pasado el tiempo de incubación de los juegos de las pruebas bioquímicas se procede a realizar la lectura de cada una de ellas. Con ayuda de tablas se identificó a los microorganismos encontrados en las muestras de manos de los alumnos de la carrera de Gastronomía (Ver tabla 7 y 8).

15. ESQUEMAS DE TRABAJO

Esquema de trabajo 1. Recolección de muestras

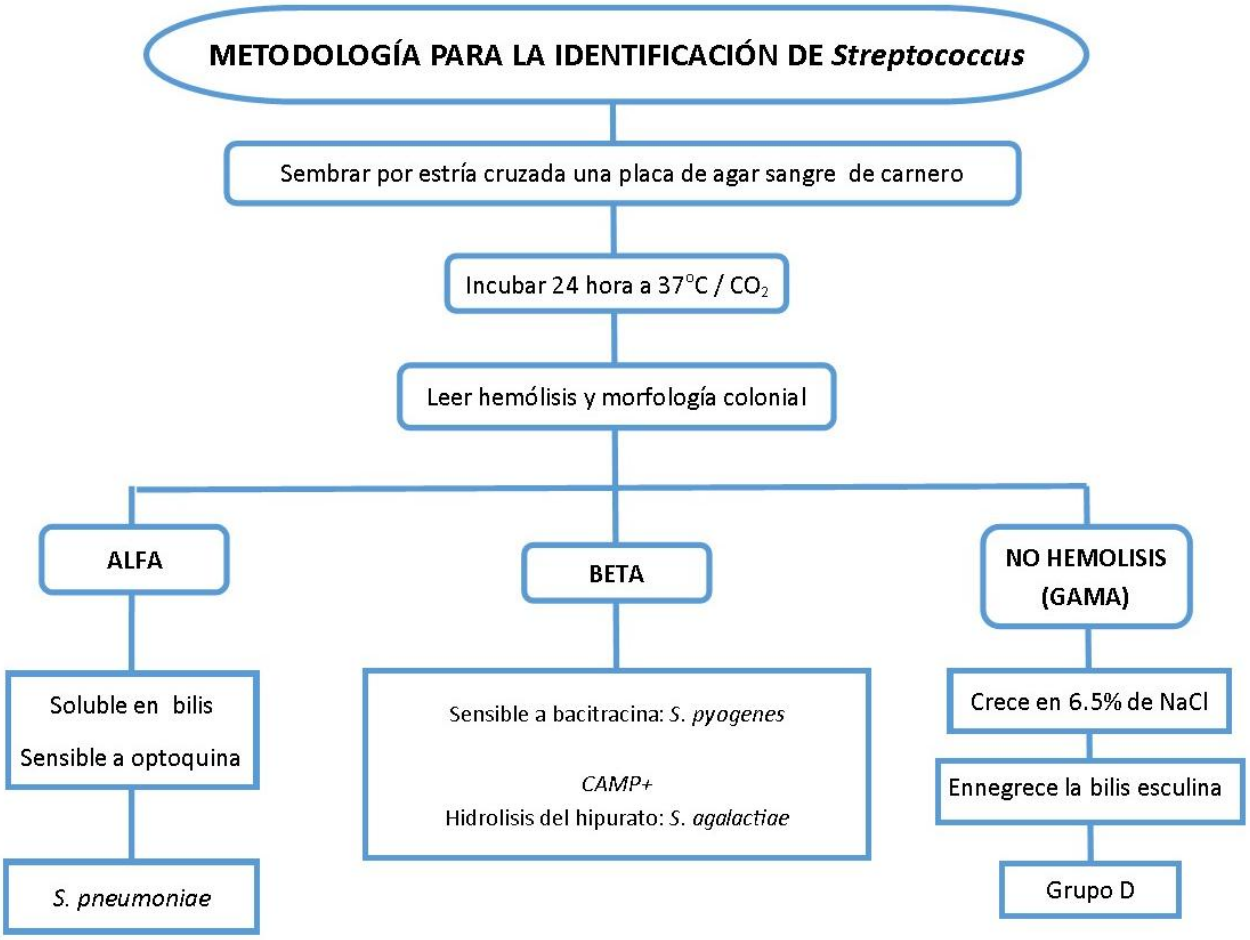
Fuente: Diseño del estudio

Esquema de trabajo 2. Procesamiento de las muestras.



Fuente: Diseño de estudio

Esquema de trabajo 3. Metodología para la identificación de *Streptococcus*



Fuente: Departamento de Microbiología BUAP, 2013.

Esquema de trabajo 4. Metodología para la identificación de *Staphylococcus*

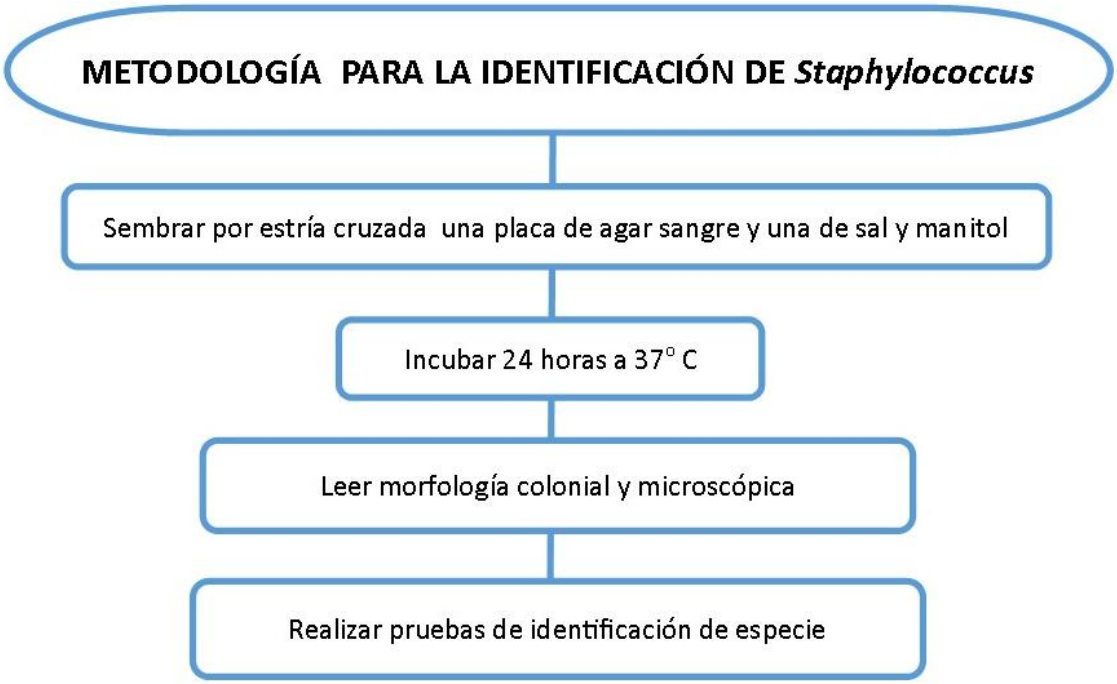
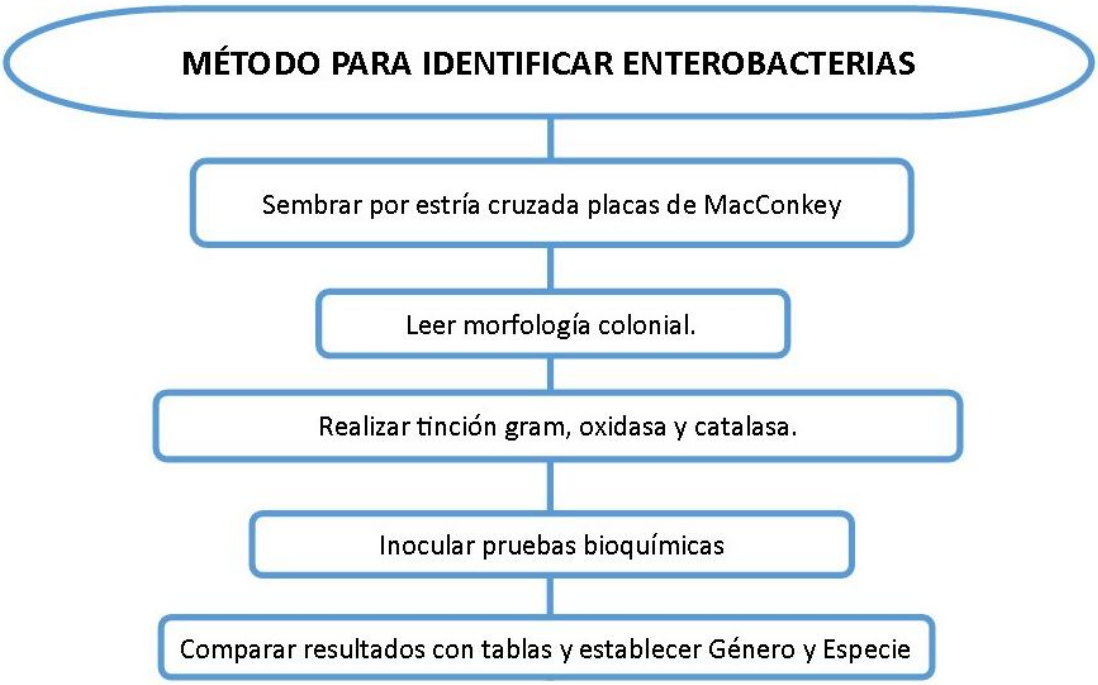


Tabla 7. Diferenciación de las especies de *Staphylococcus*

PRUEBAS DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE	*S. aureus*	*S. epidermidis*	*S. saprophyticus*
Color de las colonias	Amarillo—Blanco	Blanco	Blanco
Hemólisis en agar sangre	+	+/-	-
Crecimiento anaerobio	+	+	+/-
Coagulasa	+	-	-
Fermentación de la glucosa	+	+	+
Fermentación del manitol	+	-	-
Novobiocina	Sensible	Sensible	Resistente

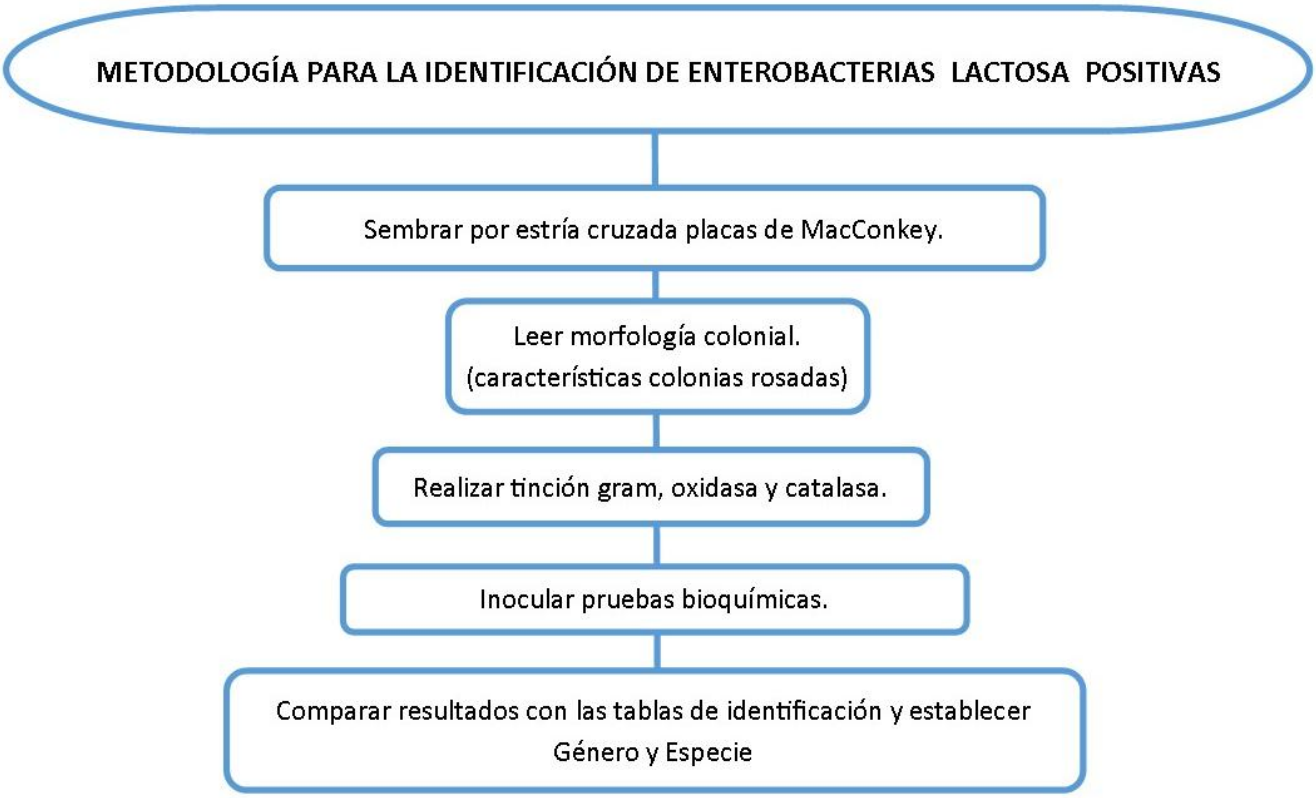
Fuente: Departamento de Microbiología BUAP, 2013

Esquema de trabajo 5. Método para identificar enterobacterias



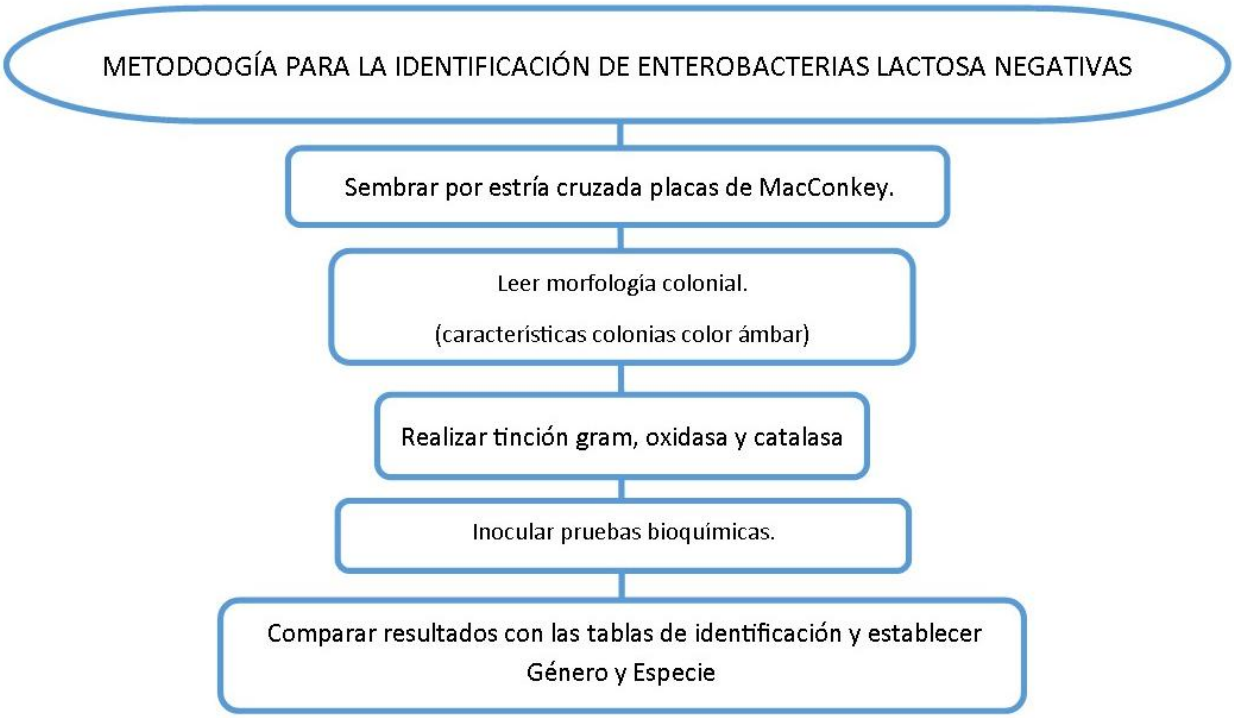
Fuente: Departamento de Microbiología BUAP, 2011.

Esquema de trabajo 6. Metodología para la identificación de Enterobacterias lactosa positivas.



Fuente: Diseño de estudio

Esquema de trabajo 7. Metodología para la identificación de Enterobacterias lactosa negativas.



Fuente: Diseño de estudio

Esquema de trabajo 8. Metodología para la identificación de bacterias no fermentadoras

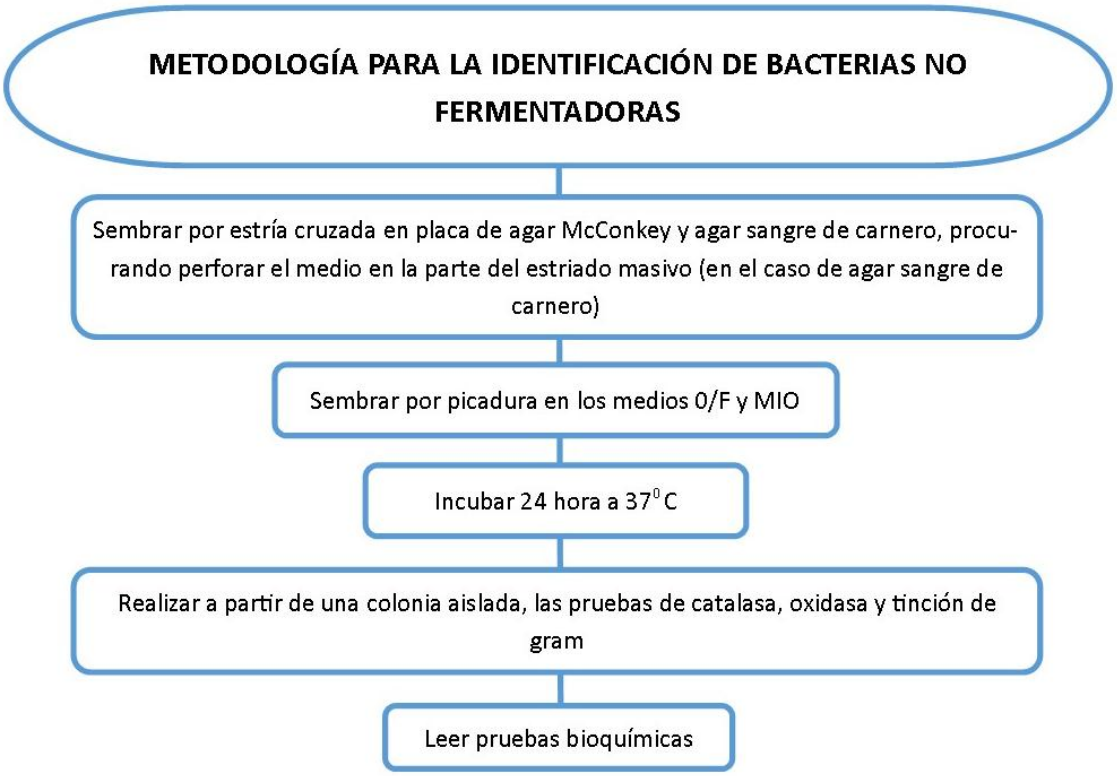


Tabla 8. Características de algunos géneros gramnegativos no fermentadores

GÉNERO	METABOLISMO	MOVILIDAD	OXIDASA	CRECIMIENTO EN McCONKEY	OTRAS CARACTERISTICAS
Pseudomonas	O	+ Flagelos polares	+	+	Desnitrifican nitratos a N_2
Acinetobacter	O ò NS	-	-	+	Parecen diplococos
Bordetella	O	V	+	Escaso o Negativo	Requiere factores de crecimiento
Moraxella	O ò NS	-	+	Escaso o	Cocobacilar, difícil de crecer

Fuente: Departamento de Microbiología BUAP, 2013

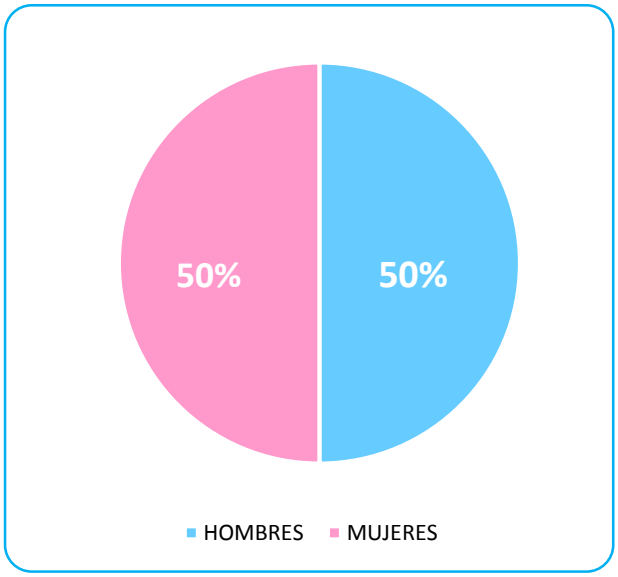
16. RESULTADOS

Tabla 9. Distribución de las variables de género y edad de los participantes del estudio

(n= 44)		
Variables demográficas		**Porcentaje (%)**
GÉNERO	Hombre	50
	Mujer	50
EDAD		18-24 años

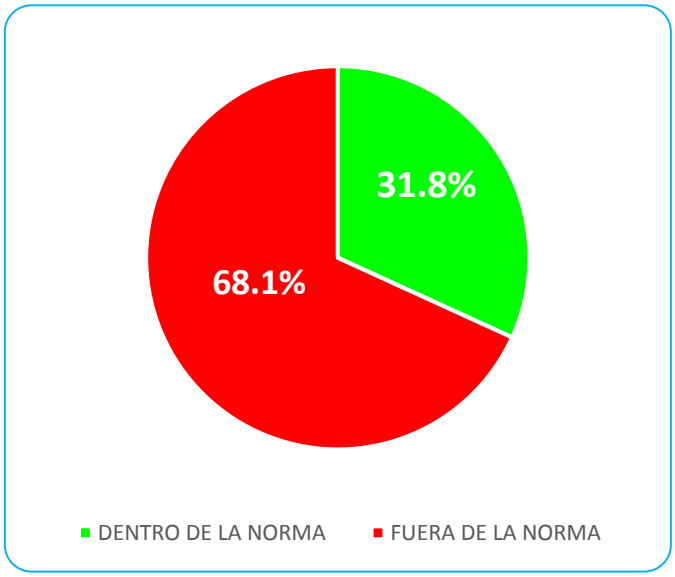
Fuente: Resultados de laboratorio

Gráfica 1. Género de los alumnos de la Licenciatura de Gastronomía que participaron en la investigación.



Fuente: Resultados de laboratorio

Gráfica 2. Número de alumnos que se encuentran dentro y fuera de la norma NOM-093-SSA1-1994.



Fuente: Resultados de laboratorio

Tabla 10. Resultados del recuento de BMA, CT y microorganismos aislados de las muestras procedentes de superficies vivas en el laboratorio HAUTE CUISINE

MUESTRAS DE SUPERFICIES VIVAS				
No.	**HAUTE CUISINE**			
	NOMBRE	**BMA (UFC/cm^2)**	**CT (UFC/cm^2)**	**MICROORGANISMO AISLADO**
1	Estudiante 1 (SLCC)	**Incontables**	**10**	*Alcaligenes* spp.
2	Estudiante 2 (AKBH)	77	**19**	*Enterobacter* spp.
3	Estudiante 3 (HEH)	184	**12**	*Shigella* spp.
4	Estudiante 4 (CGGL)	**Incontables**	**Incontables**	*Enterobacter aerogenes* *Staphylococcus aureus*
5	Estudiante 5 (CAVP)	525	**20**	*Klebsiella pneumoniae*
6	Estudiante 6 (BALF)	336	3	*Shigella* spp.
7	Estudiante 7 (SMM)	86	**10**	*Providencia* spp.
8	Estudiante 8 (EJAH)	1	**41**	*Citrobacter freundii* *Staphylococcus aureus*
9	Estudiante 9 (RRL)	105	0	*Staphylococcus epidermidis*
10	Estudiante 10 (BAC)	417	0	*Staphylococcus epidermidis*
11	Estudiante 11 (KCF)	50	1	*Enterobacter* spp.
12	Estudiante 12 (KML)	63	2	*Enterobacter aerogenes*
13	Estudiante 13 (LFH)	173	0	*Staphylococcus epidermidis*
14	Estudiante 14 (JMTC)	**Incontables**	0	*Staphylococcus epidermidis*

Fuente: Resultados de laboratorio

Tabla 11. Resultados del recuento de BMA, CT y microorganismos aislados de las muestras procedentes de superficies vivas en el laboratorio ESCOFFER

MUESTRAS DE SUPERFICIES VIVAS				
No.	ESCOFFER			
	NOMBRE	BMA (UFC/cm^2)	CT (UFC/cm^2)	MICROORGANISMO AISLADO
1	Estudiante 1 (MGOE)	360	0	Sin crecimiento
2	Estudiante 2 (ISH)	Incontable	396	*Enterobacter cloacae*
3	Estudiante 3 (APTR)	Incontable	292	*Enterobacter cloacae*
4	Estudiante 4 (BAC)	168	16	*Providencia* spp.
5	Estudiante 5 (BMRF)	312	12	*Enterobacter aerogenes*
6	Estudiante 6 (JPAL)	1108	17	*Providencia* spp.
7	Estudiante 7 (HMR)	656	2	*Enterobacter cloacae*
8	Estudiante 8 (AGG)	388	3	Sin crecimiento
9	Estudiante 9 (PAGG)	160	7	Sin crecimiento
10	Estudiante 10 (VLR)	840	3	*Enterobacter agglomerans*
11	Estudiante 11 (JML)	264	64	*Enterobacter agglomerans*
12	Estudiante 12 (JSLR)	812	296	*Enterobacter cloacae*
13	Estudiante 13 (CJZC)	Incontable	284	*Enterobacter agglomerans*
14	Estudiante 14 (CAM)	Incontable	148	*Serratia marcenses*
15	Estudiante 15 (VRT)	392	18	*Enterobacter agglomerans*

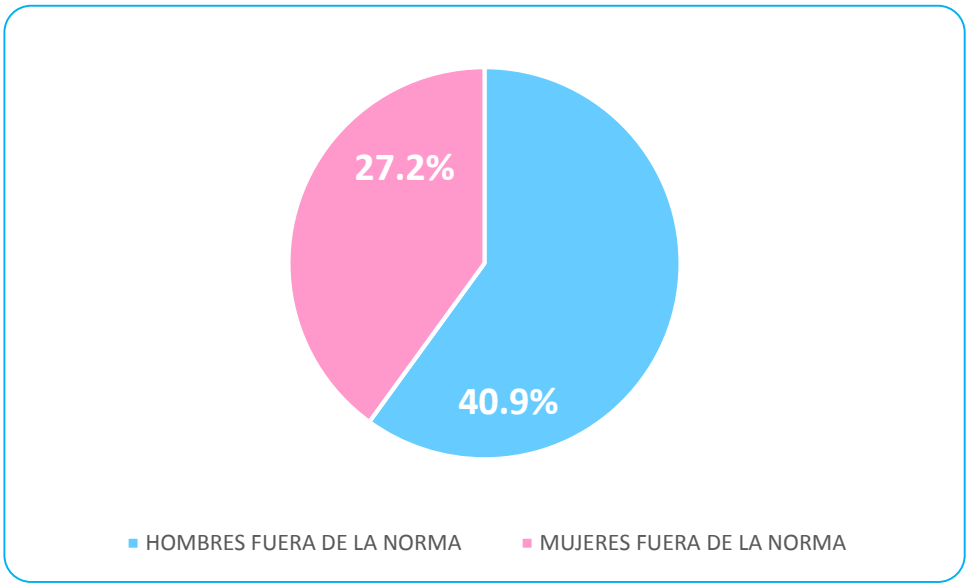
Fuente: Resultados de laboratorio

TABLA 12. Resultados del recuento de BMA, CT y microorganismos aislados de las muestras procedentes de superficies vivas en el laboratorio
laboratorio BOULANGER

MUESTRAS DE SUPERFICIES VIVAS				
No.	BOULANGER			
	NOMBRE	**BMA (UFC/cm²)**	**CT (UFC/cm²)**	**MICROORGANISMO AISLADO**
1	Estudiante 1 (MÁOM)	**Incontables**	**120**	*Enterobacter aerogenes*
2	Estudiante 2 (JCMB)	424	**105**	*Serratia marcenses*
3	Estudiante 3 (BES)	**Incontables**	8	*Serratia rubidae*
4	Estudiante 4 (JÁEM)	**Incontables**	5	*Staphylococcus aureus*
5	Estudiante 5 (MGFJ)	**Incontables**	**320**	*Enterobacter cloacae*
6	Estudiante 6 (RCL)	280	**45**	*Enterobacter cloacae*
7	Estudiante 7 (ABVP)	368	**40**	*Enterobacter cloacae*
8	Estudiante 8 (MGFJ)	**Incontables**	**Incontables**	*Serratia marcenses*
9	Estudiante 9 (JFA)	**Incontables**	**556**	*Enterobacter cloacae*
10	Estudiante 10 (AAGB)	202	**65**	*Staphylococcus aureus*
11	Estudiante 11 (JIFS)	**Incontables**	**Incontables**	*Klebsiella oxytoca*
12	Estudiante 12 (MMC)	**Incontables**	**80**	*Enterobacter cloacae*
13	Estudiante 13 (EMC)	624	4	*Enterobacter cloacae*
14	Estudiante 14 (MDP)	920	**20**	*Staphylococcus aureus*
15	Estudiante 15 (AÁJ)	192	1	*Serratia marcenses*

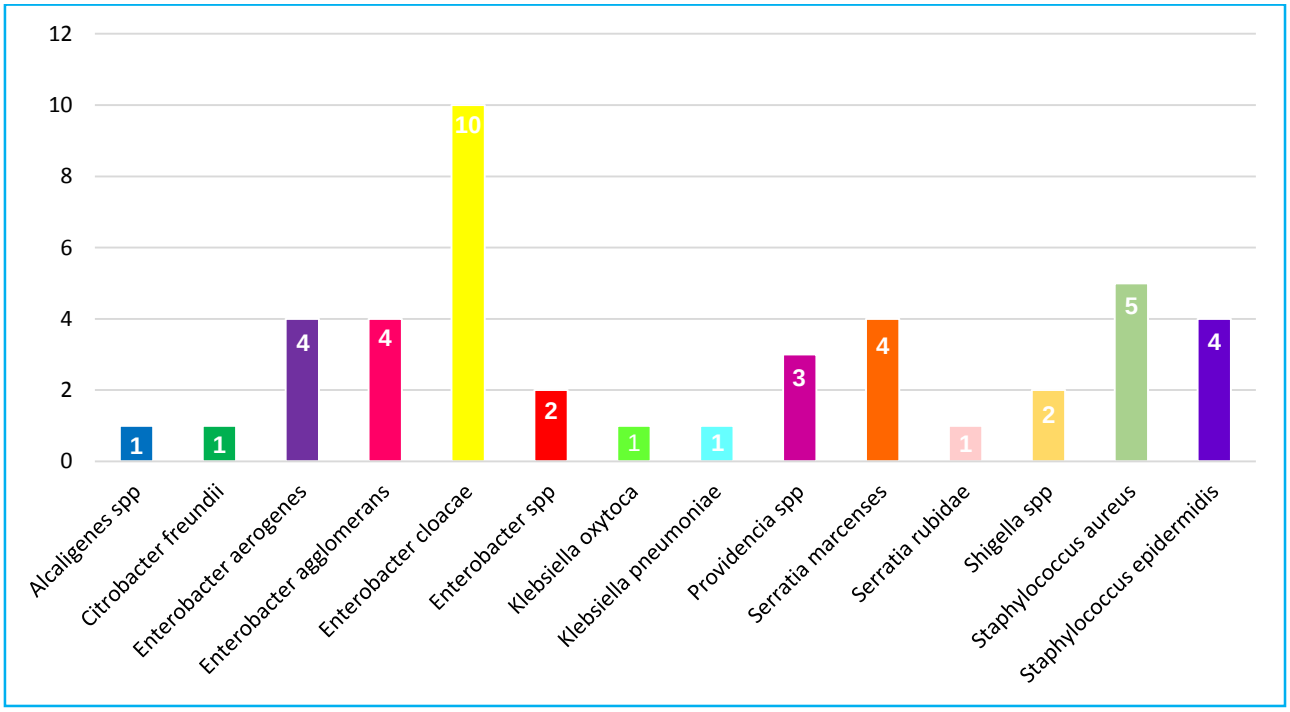
Fuente: Resultados de laboratorio.

Gráfica 3. Genero de los alumnos cuyos resultados se encuentran fuera de la NOM-093-SSA1-1994 tomando en cuenta los tres laboratorios muestreados.



Fuente: Resultados de laboratorio

Gráfica 4. Frecuencia de los microorganismos aislados en las manos de los alumnos de los tres laboratorios.



Fuente: Resultados de laboratorio

17. DISCUSIÓN

En el periodo comprendido de Julio a Octubre de 2019, se recolectaron 44 muestras de superficies vivas (manos) de los alumnos de la carrera de Gastronomía de primer semestre, los muestreos fueron programados en distintas semanas por cuestiones de logística. Los alumnos participantes tienen un rango de edad de 18 a 24 años (Ver tabla 9) se incluyó tanto a hombres como mujeres (Ver gráfica 1) de los laboratorios denominados Haute Cuisine (Ver tabla 10), Escoffer (Ver tabla 12) y Boulanger (Ver tabla 14) para así realizarles cultivo en diferentes agares para su desarrollo, tinción de gram y posterior identificación contrastando con los valores de referencia establecidos en la NOM-093-SSA1-1994 se determinó que solo el 10% de sus resultados estaban dentro de lo que contempla la norma (Ver tabla 9). En la tabla 9 se presentan los datos de las variables demográficas de los alumnos de la Licenciatura de Gastronomía de una Universidad Pública que participaron en el estudio. Teniendo en cuenta a García y col. en su estudio realizado en alumnos de la Universidad del Valle de México las manos son el vehículo más común para la transmisión de infecciones[19] como se muestra en la tabla 10 se muestra el resultado del análisis de las superficies vivas de los alumnos que asisten al laboratorio HAUTE CUISINE NOM-093-SSA1-1994. Cuyos valores de referencia son **BMA** <3000 UFC/cm^2 de superficie; **CT** <10 UFC/cm^2 de superficie. En la tabla 11 se muestra el resultado del análisis de las superficies vivas de los alumnos que asisten al laboratorio ESCOFFER tomando en cuenta la NOM-093-SSA1-1994 utilizada para contrastar los resultados obtenidos (**BMA** <3000 UFC/cm^2 de superficie; **CT** <10 UFC/cm^2 de superficie). En la tabla 12 se muestra el resultado del análisis de las superficies vivas de los alumnos que asisten a la COCINA BOULANGER tomando en cuenta la NOM-093-SSA1-1994 utilizada para contrastar los resultados obtenidos.

La gráfica 3 demuestra que después de analizar los resultados de laboratorio se demostró que los alumnos del sexo masculino presentaron una higiene de manos deficiente ya que del total de los participantes del sexo masculino muestreados el 40.9% (18 alumnos) no cumplieron con la NOM-093-SSA1-1994. De acuerdo con la FDA (2018) que describe los patógenos principales transmitidos por los alimentos[17]; se muestra la gráfica 4 la frecuencia de los microorganismos aislados de las manos de los alumnos en esta investigación, ya que es de suma importancia conocer y tomar en cuenta el tipo de microorganismo que se aisló. En el muestreo realizado en el

laboratorio Haute Cuisine se aislaron los siguientes microorganismos: *Alcaligenes* spp (7.14%), *Enterobacter* spp (14.28%), *Shigella* spp (14.28%), *Providencia* spp (7.14%), *Citrobacter freundii* (7.14%), *Staphylococcus aureus* (7.14%), *Staphylococcus epidermidis* (28.57%), *Enterobacter aerogenes* (7.14%), *Klebsiella pneumoniae* (7.14%) (Ver tabla 10) Donde el 21% de estos microorganismos es considerado patógeno y el resto flora normal humana. En el muestreo realizado en el laboratorio ESCOFFER se aislaron los siguientes microorganismos: *Enterobacter cloacae* (26.66%), *Providencia* spp (13.3%), *Enterobacter aerogenes* (6.66%), *Enterobacter agglomerans* (26.66%) y *Serratia marcenses* (6.66%) (Ver tabla 11) Donde el 26.6 % de estos microorganismos es considerado patógeno y el resto flora normal. En el tercer muestreo realizado en el laboratorio BOULANGER se aislaron los siguientes microorganismos: *Enterobacter aerogenes* (6.66%), *Serratia marcenses* (20.0%), *Serratia rubidae* (6.66%), *Staphylococcus aureus* (20.0%), *Enterobacter cloacae* (40.0%) y *Klebsiella oxytoca* (6.66%) (Ver tabla 12). Donde el 40% de estos microorganismos es considerado patógeno y el resto flora normal humana.

Desde el punto de vista de Méndez y col. (2012) donde desarrollaron una investigación para comprobar la resistencia ante antibióticos considerando nariz, boca y manos: en un grupo de 100 mujeres (64.5%) y 55 hombres (35.5%) en Bogotá, Colombia, examinaron muestras de estudiantes de medicina (n= 155) en rotaciones de 3 semanas, los cuales se tomaron de nariz, boca, manos y fonendoscopio, sembrados en agar sangre, incubados por 24 horas a 37°C y 5% de CO2. Hallaron alta frecuencia de bacterias patógenas, principalmente de *Staphylococcus aureus* en un 41.7% y la resistencia a los medicamentos por grampositivos y gramnegativos, dando a entender que la distribución de aislamiento porcentual fue mayor en manos[25] lo cual comparándose con el resultado de los tres muestreos de las manos de los alumnos de la Licenciatura de Gastronomía, se demostró que el 68.1% de los alumnos no cumplen con la norma, a pesar de la existencia de la NOM-251-SSA1-2009 lo que refleja el desconocimiento de su aplicación en las áreas de elaboración de alimentos y debe insistirse que son alumnos de nuevo ingreso que deben tomar cursos de capacitación para el lavado de manos para que más adelante tengan la conciencia de la importancia de este proceso (lavado de manos). Ya que solamente el 31.8% del total de alumnos muestreados cumplieron con lo establecido con la norma. De los 44 alumnos que participaron, el porcentaje de Bacterias Mesófilas Aerobias fuera de la norma fue de 34% y Coliformes Totales fue de 63.6%.

Los alumnos de la Licenciatura de Gastronomía tienen varios factores que los hacen susceptibles a adquirir y a transmitir infecciones, el estudio ha demostrado que en las manos de al menos el 68.1% de los estudiantes presenta alguna especie bacteriana (Ver gráfica 4) y que tan solo el 31.8% de estos cumple NOM-251-SSA1-2009 con la higiene de manos adecuada antes de entrar al laboratorio y de iniciar la manipulación de alimentos y utensilios.

18. CONCLUSIONES

1.- En general se logró aislar e identificar las siguientes bacterias: *Alcaligenes* spp (2.32%), *Enterobacter* spp (4.65%), *Shigella* spp (4.65%), *Enterobacter aerogenes* (9.30%), *Staphylococcus aureus* (11.62%), *Klebsiella pneumonie* (2.32%), *Citrobacter freundii* (2.32%), *Staphylococcus epidermidis* (9.30%), *Enterobacter cloacae* (23.25%), *Providencia* spp (6.97%), *Enterobacter agglomerans* (9.30%), *Serratia marcenses* (9.30%), *Serratia rubidae* (2.32%), *Klebsiella oxytoca* (2.32%). El problema con el lavado inadecuado de manos llega a complicarse debido a la alta prevalencia de bacterias multirresistentes; de las que son de gran importancia las cepas de *Staphylococcus aureus*, las cepas de *Enterococcus*, bacilos gramnegativos como *Pseudomonas* y *Klebsiella*.

2.- La estrategia educativa que se propone es llevar a cabo capacitación continua de todos los alumnos en todos los niveles de la Licenciatura de Gastronomía de una Universidad Pública durante su estancia en su formación académica, para inducir un cambio en los hábitos del lavado de manos tomando en cuenta la NOM-251-SSA1-2009 y así lograr hacer conciencia en los alumnos.

20. BIBLIOGRAFIA

1. Alba, L. A., Fajardo, G., Papaqui, J. (2014). La importancia del lavado de manos por parte del personal a cargo del cuidado de los pacientes hospitalizados. *Enferm Neurol (Méx)*, *13*(1), 19-24.
2. Almeida, C. y Correa, M. (2012). Bacterias presentes en las manos de los niños en edad escolar en la Unidad de Internación Pediátrica. *Invest Educ Enferm*; 2(30): 240-244.
3. Ansari, S., Sattar S., Springthorpe, S., Wells G., Tostowaryk W. (1998) Supervivencia del rotavirus en manos humanas y transferencia de virus infecciosos para animar superficies inanimadas no porosas. *J Clin Microbiol*. 26 (8): 1513-1518. (Disponible en: http://jcm.asm.org/cgi/reprint/26/8/1513).
4. Ávila, L. (2011) Método práctico para el diagnóstico y control de un brote de infección intrahospitalaria en un servicio de neonatología. Rev. cub. salud pública; 37(4):442-51. (Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S086434662011000400008&lng=es)
5. Castañeda, J., Hernández, H. (2016). Lavado (higiene) de manos con agua y jabón. *Acta Pediatr Mex*., 37(6), 355-357.
6. Coelho, M., Silva. C., Faria S. (2011) Higiene de manos como estrategia fundamental en el control de infección hospitalaria: un estudio cuantitativo. *Enferm. glob.;* 10 (1): 1-9.
7. Corrales, L., Peña, V., Caicedo D. (2008) Identificación de *Salmonella* y *Escherichia coli* en manos y guantes de manipuladores en planta de sacrificio y faenado de un municipio de Cundinamarca. *NOVA publ. cient*; 9(6): 20-26.
8. Cuervo, J. (2010). Aislamiento y Caracterización de *Bacillus spp* como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. 3(9) 16-35.
9. Departamento de Microbiología BUAP. (2013). Características de algunos géneros gramnegativos no fermentadores. En Manual de Bacteriología (7). Puebla, Pue.: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
10. Departamento de Microbiología BUAP. (2013). Diferenciación de las especies de *Staphylococcus*. En Manual de Bacteriología (15). Puebla, Pue.: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

11. Departamento de Microbiología BUAP. (2011). Método para identificar enterobacterias En Manual de Bacteriología (11). Puebla, Pue.: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
12. Departamento de Microbiología BUAP. (2013). Metodología para la identificación de *Streptococcus*. En Manual de Bacteriología (13). Puebla, Pue.: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
13. Departamento de Salud y Servicios Humanos. (2020). La *E. coli* y la seguridad de los alimentos. 2020, de Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Disponible en: https://www.cdc.gov/foodsafety/es/index.html)
14. Dier, P. (2005). Directrices de la OMS sobre el lavado de manos en la atención sanitaria. En Alianza mundial para la seguridad del paciente (22). Ginebra, Suiza: 20 Avenue Appia.
15. Doebbeling, B., Pfaller, M., Houston, A., Wenzel, R. (1988) Eliminación de patógenos nosocomiales del guante contaminado. Implicaciones para la reutilización de guantes y el lavado de manos. Ann Intern Med; 109 (S): 394-8
16. Escobar, M., De los Ángeles, N., Tercero, Z., Dirialet, K. (2015). *Shigella spp* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua).
17. FDA. (2018). Los 14 patógenos principales transmitidos por los alimentos de Seguridad alimentaria para futuras mamás, de U.S FOOD AND DRUGS (Disponible en: https://www.fda.gov/food/people-risk-foodborne-illness/los-14-patogenos-principales-transmitidos-por-los-alimentos-de-seguridad-alimentaria-para-futuras)
18. Fryklund, B., Tullus, K., Burman, L. (1995) Supervivencia en piel y superficies de cepas epidémicas y no epidémicas de enterobacterias de unidades de cuidados especiales neonatales. Hosp Infect; 29: 201-208
19. García, E., García, F., Bautista, I., Uzagahuac, E., López, E., Morales, R., Arévalo, J. (2016). Identificación de crecimiento bacteriano en las manos de estudiantes universitarios de ciencias de la salud de la Universidad del Valle de México, Campus Villahermosa. *Rev. Sanid. Milit*., 70(5): 453-463.
20. Hoffman, N., Cookie, M., McCarville, R., Emmerson, M., (1985) Microorganismos aislados de la piel debajo de los anillos de boda que lleva el personal del hospital. Br Med *J Clin Res Ed*; 290(6463): 206-207 (Disponible En: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1417906/pdf/bmjcred00430-0032.pdf)

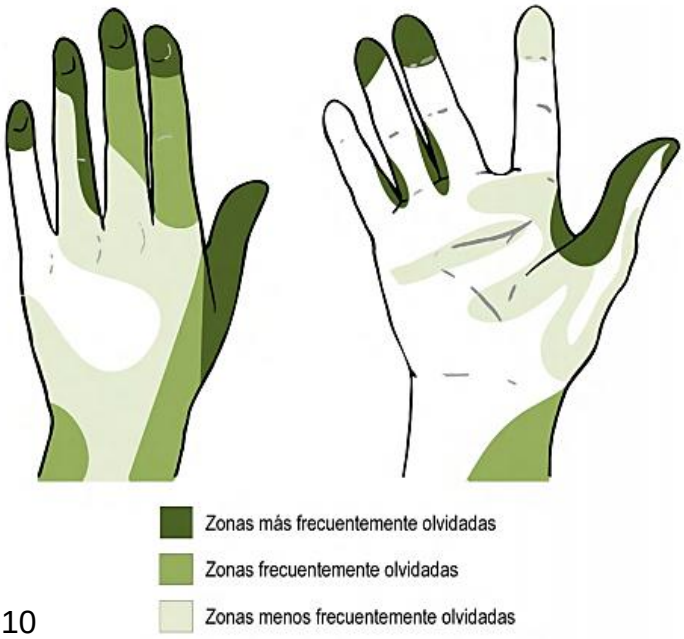
21. Islam, S., Siddique, M., Salam, K. (1995) Investigación microbiológica de epidemias de diarrea entre refugiados ruandeses en Zaire. *Trans R SocTrop Med Hyg*; 89: 506
22. Legales, N. (2007). Guía Técnica para el Análisis Microbiológico de Superficies en Contacto con Alimentos y Bebidas.
23. López, J. (2009) Microbiología básica en la educación secundaria obligatoria: el lavado de las manos. *Rev Eureka Enseñ Divul Cien*; 2(6): 319-324.
24. López, M. (2015). *S. Sonnei.* Universidad Nacional de México, 10.
25. Méndez, I., Calixto, O., Becerra, W., Vásquez, J, Bravo, J., Pachón, D. (2012) Microorganismos presentes en fonendoscopios, manos, cavidad oral y nasal de estudiantes de una facultad de medicina. *Rev Fac Med*; 20 (1): 90-100.
26. Miranda, C., Rojo, M. (2010). Clostridium perfringens: infecciones de piel y tejidos blandos,
27. Muñoz, C. (2009). Coliformes totales. En Calidad del Agua (10). Ecuador: Ingeniería en Auditoría y control de Gestión del Medio Ambiente
28. Musa, K., Desai, N., Casewell, M. (1990) La supervivencia de *Acynetobacter calcoaceticus* inoculado en las yemas de los dedos y en formica. *J Hosp Infect*; 15 (3): 219-27
29. Musa, E., Desai, N., Casewell, M., (2005). En Higiene en manos en los centros sanitarios. *Acinetobacter* (54). México, D.F: *Servicio Extremeño de Salud*
30. Noskin, G., Stosor, V., Cooper, I., Peterson, L. (1995) Recuperación de Enterococos resistentes a vancomicina en yemas de los dedos y superficies ambientales. *Infect Control Hosp Epidemiol*; 16 (10): 577-81
31. Oteo, J., Alós, J. (2009). *Listeria* y listeriosis. Servicio de Microbiología. Hospital de Móstoles. Móstoles. Madrid, 1.
32. Organización Mundial de la Salud Alianza mundial para la seguridad del paciente. (2005). Directrices de la OMS sobre higiene de las manos en la atención sanitaria (borrador avanzado): Resumen unas manos limpias son manos más seguras.
33. Ovejero, C. (2011) Adherencia a la higiene de manos en el Hospital Arne Hoygaard de Cachi. *Intra Med Journal*; 3(1): 1-9
34. Páez, C. (2013). Diseño de un laboratorio fisicoquímico y microbiológico para el control de calidad, dirigido a los productores de queso paipa, en Paipa Boyacá.

35. Parra, M., Durango, J., Máttar, S. (2002). Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por *Salmonella*. *Revista MVZ Córdoba*, *7*(2): 187-200.
36. Portuondo, P. (2012). *Bacillus cereus* y su papel en las intoxicaciones alimentarias. *Rev. cub. salud pública*, *38*(1): 98-108.
37. Ramírez, L. (2001). Shigelosis (disentería bacilar). Salud en Tabasco, *7*(3)
38. Red Oficial de Laboratorios de Análisis de Alimentos. (2014). Análisis microbiológico de los Alimentos: metodología analítica oficial.
39. Reyes, A. (2011). *Escherichia coli*. En Microbiología General (12). México, D.F. UVP.
40. Rodríguez, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli. Salud Publ Méx*, *44*(5): 10-11.
41. Rodríguez, C. (2009). Monitoreo microbiológico de aire, superficies y manos del personal asistencial en entidades de salud: Departamento del Meta 2007 (Doctoral dissertation, Universidad del Rosario).
42. Sabalete, T. (2010). Género *Clostridium perfringens*. 2010, de Fundación iO (Disponible en: http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/Genero_ *Clostridium perfringens*.html)
43. Sabalete, T. (2010). Género *Listeria monocytogenes*. 2010, de Fundación iO (Disponible en: http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/Genero_ *Listeria monocytogenes*.html)
44. Sabalete, T. (2010). Género *Salmonella*. 2010, de Fundación iO (Disponible en: http://fundacionio.org/img/bacteriology/cont/Genero_*salmonella*.html)
45. Secretaría de Salud. NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. Diario Oficial de la Federación: 12/12 /1995.
46. Secretaría de Salud. NOM-093-SSA1-1994, bienes y servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. Diario Oficial de la Federación: 4/10/1995.
47. Secretaría de Salud. NOM-109-SSA1-1994, Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Diario Oficial de la Federación: 04/11/1994.
48. Secretaría de Salud. NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Diario Oficial de la Federación: 24/05/1995.

49. Secretaría de Salud. NOM-251-SSA1-2009, Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios. Diario Oficial de la Federación: 1/03/2010.
50. Semmelweis, (1846). Higiene de manos. 2003, de FunLarguia (Disponible en: http://www.funlarguia.org.ar/Herramientas/Manejos-integrales-en-neo-II/3.-Guias-Asistenciales/3.7.-Infectologia/3.7.3.-Higiene-de-manos)
51. Serjan, A., Saraceni, L. (2005). Higiene en manos. *Rev. Hosp. Mater. Infant. Ramón Sarda,* 24(4): 158-163.
52. Tapia, J., Reyes, W., García, J., Jiménez, L., Peña, M., León, B. (2011). Comparación de costo-efectividad del lavado prequirúrgico de manos y antebrazos con diversos antisépticos. *Cir Cir*; 79 (5): 447-452.
53. Toribio, R. (2010). Higiene de manos en los centros sanitarios. Documento para directivos y responsables de la higiene de manos. Gerencia del área de salud de Plasencia. Junta de Extremadura. Consejería de sanidad y dependencia.
54. Torres, E. (2017). Relación huésped parásito: flora humana normal. (Disponible en: www. higiene. edu. uy/cefa/Libro2002/Cap% 2013. pdf).
55. Torres, K. (2015). Conocimiento sobre higiene en la manipulación de alimentos en relación con la carga microbiológica en manos de las socias que manipulan alimentos en los comedores populares del distrito de Juliaca, Puno.
56. Valdiviezo, N., Villalobos, L., Martínez, R. (2006) Evaluación microbiológica en manipuladores de alimentos de tres comedores públicos en Cumana - Venezuela. *Rev Soc Ven Microbiol*; 26(2): 95-100.
57. Villalobos, J., Mendoza, C. (2015) Contribución de la técnica social de lavado de manos en la reducción de microorganismos transitorios de la piel. *Jóvenes en la ciencia*; 1 (2): 167-171.

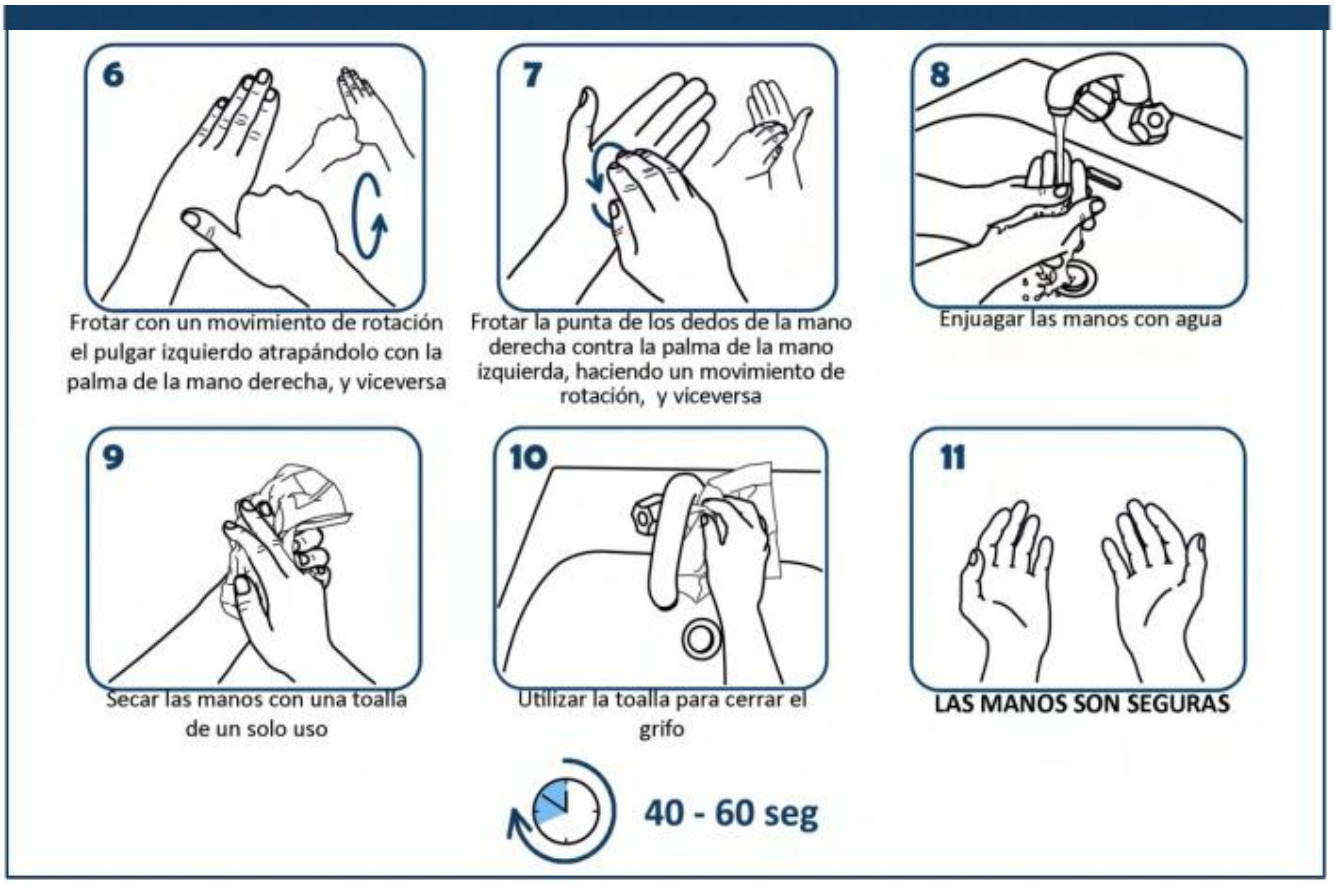
21. ANEXOS

Anexo 1. Zonas habitualmente olvidadas durante la realización de la higiene de manos



Fuente: Toribio. 2010

Anexo 2. Técnica de higiene de manos con agua y jabón no antiséptico..



Anexo 3. Técnica de higiene de manos con preparados de base alcohólica

Fuente: OMS, 2005.