

**Determinación de la Calidad Microbiológica de Alimentos
Listos para el Consumo en Establecimientos que Preparan
y Sirven Alimentos en la Región de Mayagüez**

por

Sandra Milena Bueno Pérez

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
en
CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ
2005

Aprobado por:

Fred Fernández, M.S.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Edna Negrón, Ph.D.
Miembro, Comité Graduado

Fecha

Vilma González, RD, MPH
Presidente, Comité Graduado

Fecha

Carlos Nazario, M.Ed, M.S.
Representante de Estudios Graduados

Fecha

Edna Negrón, Ph.D.
Coordinadora Programa Ciencia y Tecnología de Alimentos

Fecha

ABSTRACT

The main objective of this research was to evaluate the microbiological quality of foods ready for consumption in establishments that prepare and serve foods at the Mayagüez region and whose personnel approved the certified *Food Safety* course. Food samples of ham and chicken were taken for the study. The criteria used were: total aerobic count, enumeration of *Escherichia coli* and the coliform bacteria, temperature monitoring and a structured questionnaire that evaluated the practices of food risk handling. The microbiological quality of most foods was within the satisfactory degree of quality. More than half of the foods under study were outside the recommended temperature range. The food exposed in the danger zone showed a significant relation to the number of aerobic bacteria present in the food. Most of the employees showed good hygienic behavior and good practices of cleaning and disinfection during food handling.

RESUMEN

El objetivo principal de esta investigación es evaluar la calidad microbiológica de alimentos listos para el consumo en establecimientos que preparan y sirven alimentos de la región de Mayagüez y cuyo personal aprobó el curso certificado: “Inocuidad de Alimentos”. Se tomaron muestras a dos tipos de alimentos, jamón y pollo. Los criterios utilizados fueron el contaje total aeróbico, recuentos de coliformes totales y *Escherichia coli*, monitoreo de temperatura, y un cuestionario estructurado sobre las prácticas de manejo de riesgos en alimentos. La calidad microbiológica de la mayoría de los alimentos estuvo dentro del grado de calidad satisfactorio. Más de la mitad de los alimentos estuvieron fuera de los rangos recomendados de temperatura. Los alimentos expuestos en la zona de peligro demostraron una relación significativa con el número de bacterias aeróbicas presentes en el alimento. La mayoría de los empleados mostraron un buen comportamiento higiénico, al igual que buenas prácticas de limpieza y desinfección durante el manejo de los alimentos.

**Derechos de Autor Reservados ©
Sandra Milena Bueno Pérez
2005**

Dedico esta tesis:

A DIOS

A mis padres, hermanos, sobrinos y muy en especial a ti, Pedro Ricardo Arias, mi esposo, que a pesar de la distancia siempre sentí el apoyo, la paciencia, la comprensión y el ánimo para realizar mis sueños y mis metas, sin ustedes no hubiese sido esto posible.

AGRADECIMIENTOS

Antes que nada quiero dar gracias a DIOS quien ha sido mi soporte y compañía constante durante mis estudios. A todas aquellas personas que de una u otra forma participaron en este proyecto de investigación, ya que no solo contribuyeron en mi progreso académico sino también en lo personal.

De manera especial a la Presidenta del Comité Graduado, la profesora Vilma González, por aceptarme ser parte de este proyecto y dedicarme su tiempo. Por ser además de mi directora de tesis un gran apoyo, amiga y guía con sus conocimientos. A los demás miembros Dr. Fred Fernández y Dra. Edna Negrón por su contribución oportuna de ideas y orientación durante el desarrollo de este proyecto.

Al programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos del Recinto Universitario de Mayagüez de la Universidad de Puerto Rico por brindarme la oportunidad de ser parte de su programa. A las profesoras Lynette Orellana y Madeline Velásquez por la colaboración al compartir sus conocimientos.

Agradezco al Servicio de Extensión Agrícola del Colegio de Ciencias Agrícolas del Recinto Universitario de Mayagüez por brindar los fondos económicos necesarios para llevar a cabo esta investigación. A Rosita Justiniano, Sigfredo y Ángel por su apoyo emocional y motivación día a día para continuar en el desarrollo del mismo.

Al Departamento de Química del Recinto Universitario de Mayagüez por colocar la primer piedra para iniciar este viaje y realizar mis estudios lejos de mi país. Agradezco el ofrecerme la oportunidad de ser ayudante de cátedra.

Al Departamento de Salud del Programa de Salud Ambiental su Director Regional Región de Mayagüez, Sr. Edyins Rodríguez Millán y a los inspectores Evelin Laracunte y Eduardo Padilla por su colaboración con la realización de los viajes y las visitas durante la etapa experimental a cada uno de los municipios de la región.

A mis amigos en Puerto Rico que se convirtieron en mi familia, por su apoyo y amistad durante todo este tiempo. José tu eres uno de ellos.

No puedo dejar de dar gracias y muy especialmente a mi familia y a lo mas bello que me ha dado Dios que son mis padres Rosa Pérez de Bueno y Heriberto Bueno por su apoyo emocional, a mi mamá por sus oraciones que siempre me alentaban a no desmayar, a todos mis hermanos, sobrinos, primos y tíos que a pesar de la distancia siempre estuvieron de corazón a mi lado para apoyarme y repetirme mil veces que vale la pena luchar. Que los sacrificios no son sino oportunidades que le permiten a uno mejorar.

Por último pero no menos importante a mi esposo Pedro Ricardo Arias Pinzón que aún en la distancia fue la luz, el amor, el amigo y mi mayor motivación para realizar esta etapa en mi vida, gracias por la comprensión y por todo el apoyo del mundo. Te Amo.

Y doy gracias a mi Querida Colombia por los bellos recuerdos y huellas que siempre están en mí. A todos mil gracias.

Tabla de Contenido

ABSTRACT	II
RESUMEN	III
AGRADECIMIENTOS	VI
LISTA DE TABLAS	X
LISTA DE FIGURAS	XII
LISTA DE APÉNDICES	XII
1 INTRODUCCIÓN	2
2 REVISIÓN DE LITERATURA	6
3 MATERIALES Y MÉTODOS	17
3.1 ESTUDIO DE LA POBLACIÓN Y RECOLECCIÓN DE LOS DATOS.....	17
3.2 RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS	18
3.3 MONITOREO DE TEMPERATURAS	19
3.4 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	19
3.5 ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO.....	19
3.5.1 Determinación de coliformes totales y Escherichia coli:.....	20
3.5.2 Determinación de recuento total aeróbico:.....	21
3.5.3 Interpretación del análisis microbiológico.....	22
3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	24
3.6.1 Método estadístico.....	24
4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
4.1 CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO DE LOS EPSA:.....	26
4.2 RESULTADOS DEL TIPO DE ALIMENTOS.....	27
4.3 DISTRIBUCIÓN DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS POR MUNICIPIO.....	28
4.4 RESULTADOS DEL MONITOREO DE TEMPERATURAS	29
4.4.1 Análisis estadístico de riesgo de temperaturas peligrosas según resultados microbiológicos	29
4.4.2 Análisis estadístico de riesgo de temperaturas peligrosas según tipo de establecimiento	
31	
4.5 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.....	33

4.5.1	Análisis estadístico según criterios microbiológicos:.....	35
4.5.2	Análisis estadístico para contaje total aeróbico según municipio:.....	37
4.5.3	Análisis estadístico para coliformes totales según municipio:	39
4.5.4	Análisis estadístico para Escherichia coli según municipio:	40
4.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LOS TRES CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS SEGÚN EL TIPO DE EPSA: 41	
4.7	RESULTADOS DE LAS PRINCIPALES PRÁCTICAS DE MANEJO DE ALIMENTOS:	44
4.7.1	Relación de la carga microbiana con el manejo y control de temperaturas por escrito.....	44
4.7.2	Frecuencia del manejo de los alimentos fríos y/o calientes:.....	46
4.7.3	Relación de la carga microbiana con el uso del picador:.....	46
4.7.4	Análisis estadístico de las prácticas de limpieza del personal según el tipo de establecimiento	50
4.7.5	Análisis estadístico de las prácticas de limpieza y desinfección según el tipo de establecimiento	51
4.8	RESULTADOS DE LAS PRINCIPALES REGLAS DE HIGIENE PERSONAL	53
4.8.1	Análisis estadístico de las principales reglas de higiene personal según criterios microbiológicos:	53
4.9	RESULTADOS DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LAS PRÁCTICAS DE HIGIENE, LIMPIEZA Y SANEAMIENTO SEGÚN NIVEL DE ESCOLARIDAD.....	56
5	CONCLUSIONES	59
6	RECOMENDACIONES	62
	BIBLIOGRAFÍA	63
	APÉNDICES.....	68

Lista de Tablas

Tabla 3-1 Guías de la calidad microbiológica de varios alimentos listos para el consumo....	23
Tabla 4-1 Características del estudio de los EPSA de la región de Mayagüez.....	26
Tabla 4-2 Distribución de la muestra por municipio	28
Tabla 4-3 Frecuencias absolutas de riesgo de temperaturas peligrosas para contaje total aeróbico.....	30
Tabla 4-4 Frecuencias absolutas de riesgo de temperaturas peligrosas para coliformes totales	31
Tabla 4-5 Frecuencias absolutas de riesgo de temperaturas peligrosas para <i>E. coli</i>	31
Tabla 4-6 Frecuencias absolutas de riesgo de temperaturas peligrosas según tipo de establecimiento	33
Tabla 4-7 Datos microbiológicos de las muestras analizadas de acuerdo a las guías para la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para el consumo	34
Tabla 4-8 Frecuencias absolutas del contaje total aeróbico y su relación con coliformes totales	37
Tabla 4-9 Frecuencias absolutas del contaje total aeróbico según municipio	39
Tabla 4-10 Frecuencias absolutas de coliformes totales según municipio	40
Tabla 4-11 Frecuencias absolutas de <i>Escherichia coli</i> según municipio.....	40
Tabla 4-12 Frecuencias absolutas de coliformes totales según tipo de EPSA.....	42
Tabla 4-13 Frecuencias absolutas del contaje total aeróbico según tipo de EPSA.....	43
Tabla 4-14 Frecuencias absolutas de <i>E. coli</i> según tipo de EPSA.....	43
Tabla 4-15 Frecuencias absolutas del contaje total aeróbico y su relación con el control por escrito de temperaturas en los alimentos preparados.....	44

Tabla 4-16 Frecuencias absolutas de coliformes totales y su relación con el control por escrito de temperaturas en los alimentos preparados.....	45
Tabla 4-17 Frecuencias absolutas de <i>E. coli</i> y su relación con el control de temperaturas	45
Tabla 4-18 Frecuencias absolutas de coliformes totales y el uso del picador	48
Tabla 4-19 Frecuencias absolutas de contaje total aeróbico y el uso del picador.....	49
Tabla 4-20 Frecuencias absolutas de <i>Escherichia coli</i> y el uso del picador	49
Tabla 4-21 Frecuencias absolutas del lavado de manos y el tipo de EPSA.....	50
Tabla 4-22 Frecuencias absolutas del lavado de utensilios según el tipo de EPSA	51
Tabla 4-23 Frecuencias absolutas del uso de una solución desinfectante en el tercer compartimiento del fregadero según el tipo de EPSA	52
Tabla 4-24 Frecuencias absolutas del lavado de manos y el nivel de escolaridad	56
Tabla 4-25 Frecuencias absolutas del lavado de utensilios y el nivel de escolaridad.....	57
Tabla 4-26 Frecuencias absolutas del saneamiento de utensilios y el nivel de escolaridad ...	58

Lista de Figuras

Figura 3-1 Mapa de las regiones de muestreo, Puerto Rico	17
Figura 3-2 Muestra con coliformes totales y <i>E. coli</i> en petrifilms.....	21
Figura 3-3 Muestra de recuento total aeróbico en petrifilms.....	22
Figura 4-1 Tipos de alimentos analizados	28
Figura 4-2 Análisis de correspondencia múltiples de riesgo de temperaturas peligrosas según el tipo de establecimiento.....	32
Figura 4-3 Comparación de los grados de calidad microbiológica en los tres criterios microbiológicos.....	34
Figura 4-4 Análisis de correspondencia múltiples entre los grados de calidad microbiológica	36
Figura 4-5 Análisis de correspondencia múltiples individuales para los grados de calidad microbiológica	36
Figura 4-6 Análisis de correspondencias múltiples entre los grados de calidad microbiológica según municipio	38
Figura 4-7 Análisis de correspondencias múltiples entre los grados de calidad microbiológica según el tipo de EPSA	42
Figura 4-8 Análisis de correspondencias múltiples entre los grados de calidad microbiológica y el uso del picador	47
Figura 4-9 Análisis de correspondencias múltiples individuales entre los grados de calidad microbiológica y el uso del picador	48
Figura 4-10 Comparación de las principales reglas de higiene personal.....	53
Figura 4-11 Análisis de correspondencias múltiples entre los grados de calidad microbiológica y el uso del gorro, delantal limpio y uñas limpias, cortas y sin esmalte	55
Figura 4-12 Análisis de correspondencias múltiples individuales entre los grados de calidad microbiológica y las principales reglas de higiene personal.....	55

Lista de Apéndices

Apéndice 1	69
Apéndice 2: Cuestionario.....	70
Apéndice 3: Método petrifilms para la determinación de coliformes totales y <i>Escherichia coli</i>	75
Apéndice 4: Método petrifilms para la determinación de recuento total aeróbico	76
Apéndice 5: Guías para el análisis microbiológico de varios productos listos para el consumo	77
Apéndice 6: Categorías para el conteo de colonias de diferentes tipos de alimentos listos para el consumo	78
Apéndice 7: Monitoreo de temperaturas.....	79

1 INTRODUCCIÓN

Desde la existencia de la raza humana, los alimentos han sido producidos para satisfacer las necesidades biológicas de la humanidad. El aumento de la población mundial, la concentración urbana y como consecuencia el incremento en la demanda de alimentos hicieron que se aplicaran nuevas tecnologías para lograr una elaboración a gran escala. En el mundo actual, la cadena de producción y distribución de alimentos es cada vez más larga y en la mayoría de los casos el alimento llega hasta el consumidor luego de haber recorrido una serie de modificaciones y transformaciones. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) opinan que la inocuidad de los alimentos es una responsabilidad que involucra a todos los participantes de la cadena alimentaria, desde los productores primarios (agricultores, ganaderos), procesadores, envasadores, transportadores, almacenadores, puntos de venta y por último los consumidores [38].

Las medidas concernientes a la vigilancia y control de dicha inocuidad alimentaria deben cubrir cada una de estas etapas relacionadas a los procesos de manufactura, almacenaje y distribución del alimento, ya que cada una de las etapas del proceso de elaboración puede convertirse en fuente de contaminación para el alimento.

Los alimentos pueden presentar tres tipos de peligros: peligros biológicos (los cuales están asociados con las enfermedades transmitidas por el consumo de alimentos contaminados) químicos y físicos [22]. Cuando los alimentos son contaminados en niveles inadmisibles de agentes patógenos, contaminantes químicos u otros, aumentan los riesgos

para la salud de los consumidores y representan grandes cargas económicas para las diversas comunidades y naciones. Las enfermedades transmitidas por los alimentos son la causa más importante en la reducción del crecimiento económico [14]. El costo anual de estas enfermedades alimentarias en los Estados Unidos desde el punto de vista de dolor y sufrimiento, reducción de productividad y costos médicos, se estima de \$10 a \$83 billones de dólares [18].

Durante los últimos años, la inocuidad de los alimentos es uno de los temas de mayor preocupación debido a la información que brindan las agencias locales, federales e internacionales. Los datos recopilados durante la última década revelan un aumento en la incidencia de enfermedades causadas por la ingestión de alimentos procesados [48].

Entre los factores que han contribuido al aumento de las enfermedades alimentarias están el aumento de personas susceptibles: adulto mayor, HIV, inmunocomprometidos debido a diversas enfermedades crónicas y niños menores de diez años. El consumidor está gastando más del 50% del dinero destinado a alimentos en comidas fuera del hogar, especialmente en alimentos potencialmente peligrosos como comidas rápidas “*fast foods*” y “*salad bars*” (pavo, pollo, carne molida, huevos, frutas y hortalizas). Los empleados de alimentos carecen de adiestramientos y supervisión por parte de gerentes capacitados. Una mayor vigilancia y detección por parte de las agencias federales y estatales traen a los medios problemas que siempre han existido y no se les había dado la importancia que tienen para la salud pública, entre otros [38].

En la actualidad las agencias del gobierno federal que regulan la inocuidad en los alimentos han desarrollado nuevas leyes y reglamentos para eliminar, reducir o controlar las

enfermedades transmitidas a través de los alimentos. A tales efectos, en Puerto Rico entró en vigor el 4 de febrero de 2000 la Reglamentación de Salud Ambiental número 6090 donde indica la adopción del Código de Alimentos (“*Food Code*”) de la Administración Federal de Drogas y Alimentos (FDA) y el cual contiene las recomendaciones de inocuidad en alimentos que aplican a los establecimientos que preparan y sirven alimentos (EPSA) en los Estados Unidos y Puerto Rico [18,22]. De esta manera la inocuidad de los alimentos preparados son regulados para orientar al personal de la industria alimentaria y todo aquel relacionado con la ciencia de los alimentos, sobre los parámetros de inocuidad y buenas prácticas de manufactura (GMP’s, por sus siglas en inglés) de los alimentos.

En Puerto Rico existen más de 26,500 establecimientos registrados que preparan y sirven alimentos o venden al detal de acuerdo al Departamento de Salud [18]. Agencias como el Servicio de Extensión Agrícola trabajan con este tipo de establecimientos educando a su personal y al público en general a través de su objetivo de mejorar la inocuidad de los alimentos que llegan a la mesa del consumidor. El adiestramiento del personal en cuanto a la adopción de buenas prácticas contribuye en la reducción de las enfermedades transmitidas por los alimentos, y por ende ayuda a disminuir los riesgos asociados a la salud y la economía del país [18].

Por tales razones, es necesario realizar más estudios que permitan conocer la calidad en términos de su inocuidad en este tipo de productos y su incidencia con las enfermedades causadas por la ingestión de alimentos elaborados. El objetivo principal de la presente investigación es evaluar la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para el consumo y potencialmente peligrosos en los establecimientos que preparan y sirven

alimentos (EPSA) de la región de Mayagüez y cuyo personal a cargo aprobó el curso certificado. Para dicho propósito se llevaron a cabo los procedimientos microbiológicos de métodos rápidos, “Petrifilm” 3M aprobados por la AOAC como método alternativo [46] para identificar coliformes totales y *E. coli*. Además se llevó a cabo el recuento total aeróbico.

A las muestras de alimentos se les verificó la temperatura y se evaluaron otras prácticas básicas recomendadas por el Código Alimentario 2001 & Suplemento (2003), de la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) para el manejo adecuado de alimentos listos para el consumo y potencialmente peligrosos. Estos datos serán utilizados para determinar el efecto del abuso de temperatura y otros factores de riesgo de contaminación en la calidad microbiológica de estos productos. Además, conocer el impacto del curso en la adopción de prácticas recomendadas para el manejo y control sanitario de alimentos, como por ejemplo, indicar si son suficientes las medidas adoptadas y el rol de la supervisión en cuanto a la calidad microbiológica en estos tipos de alimento. Las medidas concernientes en reducir o eliminar los riesgos asociados a la contaminación son elementales para proteger al consumidor frente a las enfermedades de origen microbiano.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETA) son el mayor problema de salud pública internacional [14]. Los estudios estiman que ocurren 76 millones de enfermedades, 300,000 hospitalizaciones y 5,000 muertes anualmente en los Estados Unidos a causa de estas infecciones alimentarias [22, 32, 49]. Según el Departamento de Salud, los casos principales de ETA confirmados en Puerto Rico en el 2003 fueron: 798 casos de Salmonelosis, 102 casos de Hepatitis A, 33 casos de Shigelosis y 3 casos de *E. coli* 0157:H7 (Apéndice 1). En los últimos 15 años se ha prestado mayor atención al papel que juegan las bacterias en las ETA [4, 30, 35].

Las Agencias de Salud cada vez conducen más investigaciones acerca de brotes de enfermedad transmitidas por alimentos. También trabajan para desarrollar estrategias que prevengan brotes futuros. En los Estados Unidos, investigadores estiman que entre 250 y 350 millones de personas sufren anualmente de gastroenteritis aguda y alrededor del 25% al 30% son causadas por enfermedades transmitidas por alimentos [32]. Las poblaciones más vulnerables a éstas son: el adulto mayor, la mujer embarazada, la población inmunocomprometida y el infante [29, 31]. El Manual del Curso Certificado: Inocuidad de Alimentos, los clasifican como grupo A [22].

En la mayoría de los casos las enfermedades transmitidas por los alimentos no se identifican sus causas. Se cree que las bacterias y los virus son los agentes causantes más importantes. Entre los agentes bacterianos más importantes se encuentran: *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*. Los casos producidos por

virus, por ejemplo, el que pertenece a la familia *Caliciviridae* (conocido anteriormente como Norwalk) son más difíciles de identificar [31]. La primera vez que se asoció con gastroenteritis fue en 1972 [5]. Este virus representa la causa más frecuente de los brotes producidos por los alimentos y probablemente muchos de estos casos no son aún identificados [6, 11, 20, 23, 24, 28, 31]. En el 2000, un estudio realizado a los profesionales de salud pública en Tennessee encontró que solamente el 9% reportaron a los virus como la mayor causa de enfermedades transmitidas por alimentos [27].

Un estudio efectuado en los Departamentos del Estado y de Salud en Australia, resume la epidemiología de los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos en dicho país desde 1995 hasta el 2000 [9]. Se identificaron 293 brotes; 214 fueron producidos por alimentos, 174 de ellos (81%) se conocía su etiología. En el mismo estudio 20 muertes fueron atribuidas a enfermedades transmitidas por alimentos. Los agentes causales de los 214 brotes fueron las bacterias (61%). La frecuencia etiológica fue de *Salmonella* en 75 brotes (35%), *Clostridium perfringens* en 30 (14%), ciguatera en 23 (11%), el síndrome escombroides en 7 (3%) y los rotavirus en 6 (3%). La *Salmonella* fue responsable de 8 de las 20 muertes (40%). En este estudio los restaurantes y los abastecedores comerciales fueron asociados con el número más alto de brotes reportados. Los brotes alimentarios en hospitales e instalaciones de cuidado de envejecientes, fueron responsables del 35% de las muertes. Los alimentos más frecuentemente implicados fueron las carnes 64 (30%), pescados 34 (16%), mariscos 13 (6%), ensaladas 12 (6%), emparedados 11 (5%) y huevos 9 (4%). De las carnes, el pollo, fue el de mayor frecuencia y asociado con 27 brotes (13%). Este tipo de estudio demuestra los efectos

que causan los brotes ocurridos por las enfermedades transmitidas por los alimentos. Asimismo, otras investigaciones enfatizan que la conducta de los administradores, manipuladores y del personal en general del servicio de alimentación puede reducir el riesgo de los episodios producidos por las enfermedades alimentarias [31].

Algunos de los factores más importantes relacionados con brotes de ETA son: enfriamiento inadecuado, pobre higiene del personal a cargo de la preparación del alimento, contaminación cruzada, cocción inadecuada y utilización de equipo contaminado [48]. La manipulación excesiva en la elaboración de un producto puede representar un peligro a la salud y aumentar los riesgos que se desarrolle una mayor contaminación microbiana, ya que no solo se trata de la densidad microbiana sino de la cantidad de microorganismos que se incorporan a través de las etapas del procesamiento [10].

Un estudio descriptivo realizado por la Universidad del Estado de Ohio, logró identificar los puntos de control más importantes para mantener la inocuidad del alimento y reducir el número de casos y brotes de enfermedades transmitidas por ellos. Los cuales fueron: 1) practicar la higiene personal, 2) cocinar los alimentos adecuadamente, 3) evitar la contaminación cruzada, 4) mantener los alimentos en las temperaturas seguras y 5) rechazar alimentos de fuentes inseguras [33].

Uno de los criterios primordiales para mantener la calidad de los alimentos es el control de tiempo y temperatura, principalmente en aquellos potencialmente peligrosos y listos para el consumo (RTE por sus siglas en inglés). La temperatura del ambiente que rodea al alimento es uno de los factores más importantes para la preservación del producto [40]. Un

alimento cocido y que no se va a consumir en el momento se debe mantener a una temperatura $\geq 135^{\circ}\text{F}$ (57°C), ya que puede ser un vehículo de crecimiento bacteriano por abuso de temperatura. La práctica de mantener los alimentos a temperatura adecuada hasta el momento de ser consumidos pretende mantener la calidad e inocuidad microbiológica [22]. Aquellos alimentos que no se van a consumir tan rápidamente, se pueden mantener refrigerados a $\leq 41^{\circ}\text{F}$ (5°C). Cuando el alimento es cocido, enfriado y recalentado debe recalentarse de manera que todas las partes del alimento alcancen una temperatura de por lo menos 165°F (74°C) durante 15 seg. [18].

Después de la cocción se debe proteger de contaminación los alimentos listos para el consumo, ya que el producto no tendrá otro paso que reduzca o elimine las bacterias. A medida que el alimento se deja reposar durante cuatros horas o más a temperatura en la zona de peligro ($42\text{-}134^{\circ}\text{F}$) permite que las bacterias se reproduzcan rápidamente y por lo tanto, el producto sea más susceptible a alcanzar niveles peligrosos [22].

El tipo de contaminación asociada con mayor frecuencia con las enfermedades transmitidas por los alimentos ocurre cuando las bacterias patógenas o los virus son transferidos a los alimentos listos para el consumo [1]. La contaminación cruzada puede proceder de alimentos, empleados, equipos, ambiente (aire) y superficies de trabajo no saneados adecuadamente [22].

Un estudio realizado en Iowa, en 40 institutos de “Facilidades de Vivienda Asistida” quiso determinar la calidad microbiológica del alimento que está en contacto con superficies (tablas cortadoras, mesas, “*counters*”, equipo de cocina, utensilios cortantes) además de otras

superficies que podrían ocasionar contaminación cruzada en el alimento (manijas del refrigerador o del congelador). Este estudio utilizó criterios como el recuento total aeróbico, Enterobacteriaceae e identificación de *Staphylococcus aureus*, encontrando que solo dos instituciones cumplían los criterios para las superficies estudiadas en cada una de las tres pruebas. Pocas “facilidades de vivienda asistida” cumplían los criterios para el conteo de placa aeróbica, y casi tres cuartos de las instalaciones no cumplían este criterio en las tablas cortadoras, por lo cual la contaminación cruzada de estas superficies puede dar lugar a la contaminación del alimento [45]. Se requiere una mayor atención en el adiestramiento y la supervisión del personal a cargo de la manipulación del alimento, con el fin de reducir o eliminar la contaminación cruzada [36].

En el Reino Unido se realizó un estudio con el objetivo de evaluar las superficies usadas en la preparación de alimentos y determinar los criterios y prácticas de limpieza antes de la cocción. Se evaluaron 1,502 establecimientos entre restaurantes, cafés, panaderías y cafeterías. Se examinaron un total de 6,533 muestras de las cuales 2,033 correspondían a tablas de cortar, 2,009 a superficies de trabajo, 1,359 a muestras de envases del alimento y 1,132 a paños de limpieza. Este mismo estudio encontró que las superficies que se observaban sucias y húmedas, y que fueron saneadas desde 24 horas antes, se encontraron con los niveles más altos de bacterias. El plan HACCP fue documentado por menos del 70% de las instalaciones visitadas. Los registros de horario de limpieza también fueron documentados por el 55% de los establecimientos y los expedientes de limpieza por el 44%. También se encontró que el 67% de los establecimientos no utilizaban las tablas de cortar por

separado para los alimentos crudos y para aquellos alimentos listos para consumir. La mayor parte de los encargados (89%) habían recibido entrenamiento sobre inocuidad alimentaria. Sin embargo, los inspectores locales encargados indicaron que las muestras estudiadas presentaron niveles altos de bacterias, que la gerencia no capacita al personal del servicio de alimentación en temas relacionados con la inocuidad alimentaria y que la mayoría de los establecimientos no documentan el plan HACCP, además no contaban con horarios de limpieza ni con sus respectivos expedientes, todo lo cual afecta la higiene del alimento [42].

Se deben establecer procedimientos operacionales sanitarios, que incluya la salud e higiene de los empleados a cargo del EPSA. Algunos ejemplos de estos procedimientos son el no tocar los alimentos listos para el consumo con las manos directamente, cuándo y cómo lavarse las manos y el uso de guantes en la elaboración de alimentos que no requieren cocción [18].

En un estudio realizado en Jakarta, Indonesia, se evaluaron los factores de riesgo para la transmisión de enfermedades transmitidas por alimentos por medio de un estudio transversal donde se comparó a 128 vendedores ambulantes con 74 manipuladores de alimentos de restaurantes. La higiene pobre del lavado de manos, el contacto directo de las manos con los alimentos, el sexo masculino y el nivel de escolaridad bajo fueron características principales de los vendedores ambulantes. La contaminación fecal fue frecuente en el agua potable (65%), lavaplatos (91%) y de los cubos del hielo (100%) en ambos grupos de vendedores. Sin embargo, algunas prácticas de manejo no adecuadas encontradas en los vendedores ambulantes pueden aumentar la carga microbiana en estos

productos y puede llegar a marcar la diferencia entre comprar un alimento de venta ambulante o en un restaurante [47]. Las intervenciones para reducir las enfermedades transmitidas por los alimentos deben centrarse en medidas higiénicas adoptadas por todas aquellas personas que manejen alimentos, incluyendo lavado de manos, higiene personal adecuada y saneamiento adecuado de los equipos de limpieza.

Un procedimiento operacional elemental que se vincula con la calidad del alimento listo para consumir es durante el servicio, ya que una práctica inadecuada en este paso impactará la inocuidad del alimento. Por tanto se debe tener en cuenta, la temperatura del alimento, la higiene del empleado y la contaminación cruzada post-proceso [22]. Las buenas prácticas sanitarias y el manejo adecuado de temperatura tienen como resultado un producto más inocuo y no perecedero a corto plazo [37].

Toda el área del control de salubridad de los alimentos ha sido objeto de muchos estudios. Sin embargo no existe mayor información acerca de los criterios utilizados para determinar la inocuidad microbiológica en alimentos listos para el consumo, excepto para camarones y carne de cangrejo cocidos listos para consumir, que utilizan microorganismos indicadores para reflejar la inocuidad del alimento [26].

Los microorganismos indicadores manifiestan la calidad microbiológica de los alimentos con respecto a su inocuidad [16]. Éstos generalmente son usados con mayor frecuencia para determinar la higiene de los alimentos, cuya presencia en alimentos específicos y en cantidades determinadas se usa para evaluar la calidad higiénica existente [26].

Los indicadores de salubridad microbiológica fueron usados en tiempos pasados para detectar contaminación fecal de las aguas y con ello la posible presencia de patógenos intestinales. El primer indicador de contaminación fecal fue *Escherichia coli*. Cuando el concepto de indicador fecal se aplicó a la inocuidad de los alimentos, se adicionaron otros criterios, siendo todavía válidos los propuestos por Buttiaux y Mossel [8]. Más adelante, otros microorganismos se utilizaron con la misma finalidad y se aplicaron en los alimentos [26].

Escherichia coli, conocido anteriormente como *Bacterium coli commune* fue identificado por el pediatra Theodoro Escherich cuando intentaba aislar el agente etiológico del cólera en 1885 [13]. Al aislarlo y estudiarlo, éste investigador determinó que es un bacilo anaerobio facultativo y que predomina en el intestino, ya que estaba presente en las heces de los enfermos que él examinó. Este microorganismo pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Schardinger en 1892 fue el primero que propuso el uso de este microorganismo como índice de contaminación fecal porque se pudo aislar con la mayor facilidad que cualquiera de los microorganismos patógenos transmitidos por el agua [43]. En 1895, Smith propuso una prueba para este microorganismo como índice para determinar la potabilidad del agua [44]. Sin embargo, el criterio para *E. coli* fue confuso, ya que otras bacterias como *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp. y *Klebsiella* spp. presentaban características fenotípicas y bioquímicas similares a ésta, como consecuencia se empieza a utilizar el criterio de coliformes para este grupo de bacterias entéricas.

En la actualidad las agencias gubernamentales y las industrias utilizan los coliformes como indicadores de higiene o contaminación después del proceso [19]. Los coliformes no tienen una clasificación taxonómica definida, pero describe al grupo de las bacterias gram negativas (*Citrobacter*, spp. *Enterobacter*, spp. *Escherichia* spp. y *Klebsiella* spp.) y son bacilos anaerobios facultativos que fermentan la lactosa, produciendo ácido y gas. Esto ocurre generalmente a 95°F (35°C) en 48 horas aproximadamente [26].

E. coli es un indicador de sanidad que puede indicar contaminación fecal en el alimento [10]. Si la presencia de *E. coli* se detecta luego del procesamiento del alimento, esto es un indicativo que los procesos de saneamiento y control de temperatura son inadecuados [7].

Si bien la presencia de cifras elevadas de coliformes y de *E. coli* en los alimentos es indeseable, es prácticamente imposible eliminarlos todos aún con procedimientos correctos de fabricación (GMP's por sus siglas en inglés), por lo tanto la producción de alimentos con el número más bajo posible de microorganismos es el objetivo deseable. Cuando se trata de agua y de productos lácteos existen criterios y patrones específicos de coliformes y *E. coli* ya existe un largo historial de inocuidad relacionado con el número permisible de estos microorganismos. En cuanto a los alimentos potencialmente peligrosos se permite un número de coliformes que varía desde 1 a 100/g ó 100 ml. Este criterio refleja tanto su factibilidad como los parámetros de seguridad [26].

Investigaciones recientes, acerca del nivel de salubridad microbiológica en alimentos listos para consumo, indican que estos alimentos pueden ser fuente de enteropatógenos, de

ahí la importancia de enseñar al personal nociones de inocuidad alimentaria. Esto lo demuestra un estudio que evaluó el nivel de calidad microbiano en los alimentos vendidos en las calles de Accra, Ghana, el cual también indica los factores que favorecía la contaminación de los alimentos. Se usaron cuestionarios estructurados para reunir los datos, con respecto a higiene personal, higiene alimentaria y conocimiento de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Se observó que la mayoría de los vendedores tenían estudios y mostraban un buen comportamiento higiénico. Sin embargo, la cocción de alimentos mucho antes de su consumo, su exposición al ambiente y el hecho de manipularlos a nivel del suelo y con las manos expuestas fueron factores de riesgos frecuentes de contaminación. La calidad microbiana de la mayoría de los alimentos se clasificaba dentro de lo aceptable, aunque muestras de ensaladas y macarrones presentaron niveles inadmisibles de contaminantes [34].

En un estudio realizado en tiendas y supermercados en el centro de Taiwán entre 1999–2000 se examinaron 164 muestras de productos alimenticios (RTE) a 64.4°F (18°C) con el fin de determinar el nivel de calidad microbiológica de estos. Los productos alimenticios elaborados por 16 fábricas, fueron divididos en grupos basados en el tipo de alimento y sus mayores ingredientes. Se utilizaron criterios como el conteo total aeróbico en plato, coliformes totales, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, y *Pseudomonas* psicotrópicas. La incidencia de *E. coli* y coliformes en estos productos fueron de 7.9% y 75.0%, respectivamente, mientras que el 49.8% y el 17.9% de las muestras se encontraron con *B. cereus* y *S. aureus*, respectivamente. El 1.3% de los productos obtuvieron un conteo mayor de 10^5 CFU g⁻¹ de *B. cereus* y 0.7% obtuvieron más de 10^5 CFU g⁻¹ de

S. aureus. Los valores del pH de las muestras fueron por debajo de 7.0, excepto para los tallarines fríos, que tuvo valores de pH entre 5.18 y 8.20. Entre los tipos de alimentos, la incidencia más alta fue de *Pseudomonas* (64.0 %) y de *E. coli* (16%) encontrados en el sushi. Por otro lado, la tasa más alta de la incidencia de coliformes, *B. cereus*, y *S. aureus* se encontró en los sándwiches (88%), los tallarines fríos (66.7%) y el arroz (25.0%), respectivamente. En cuanto, a los productos alimenticios según sus ingredientes, los hechos de jamón tuvieron la incidencia más alta de coliformes (88.0%) y *E. coli* (16.0%). Los productos alimenticios que contenían carne o jamón presentaron la tasa más altas de incidencia de *B. cereus* (62.5%) y *S. aureus* (26.1%), respectivamente. Para coliformes, *E. coli*, *B. cereus* y *S. aureus*, el porcentaje de los productos alimenticios RTE a 64.4°F (18°C) que exceden los criterios microbiológicos, según aceptado por la República de China fueron de 75.0%, 7.9%, 49.8% y 17.9%, respectivamente [15]. Estas investigaciones ayudan a profesionales en los Alimentos y Nutrición y a educadores de la salud en la comunidad a centrar sus esfuerzos en los procedimientos adecuados en manejo de alimentos, principalmente aquellos listos para el consumo y potencialmente peligrosos, con el fin de garantizar la inocuidad microbiológica de los mismos, retardar su deterioro, y no ser vehículo de enfermedad a la población.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Estudio de la población y recolección de los datos

Se estudiaron los EPSA de la Región de Mayagüez cuyo personal a cargo aprobó el curso certificado de “Inocuidad de Alimentos”, ofrecido por el Servicio de Extensión Agrícola. De un total de 437 EPSA certificados en la región entre el 2003 y el 2004, se seleccionaron 64 establecimientos por medio del plan de muestreo aleatorio estratificado [12]. Según el Departamento de Salud, la región de Mayagüez comprende diez municipios, dentro de los cuales se encuentran: Rincón, Las Marías, Cabo Rojo, Añasco, Sabana Grande, Lajas, Maricao, Hormigueros, San Germán y Mayagüez, los cuales formaron parte del estudio.



Figura 3-1 Mapa de las regiones de muestreo, Puerto Rico (zona circulada)

Se utilizó un cuestionario estructurado y validado para reunir información demográfica, preparación académica/trabajo, la temperatura del alimento, al igual que preguntas relacionadas con la adopción de prácticas recomendadas por el Código de Alimentos 2001 & Suplemento (2003), correspondientes al manejo de riesgo de alimentos potencialmente peligrosos (Apéndice 2).

3.2 Recolección de las muestras

Los alimentos analizados se encontraban listos para ser consumidos y se seleccionaron dos tipos principalmente, un plato frío a base de jamón y un plato caliente a base de pollo, sin embargo en algunos EPSA se sustituyeron por otro alimento equivalente a los mencionados anteriormente. Los estudios indican que se debe establecer una programación de muestreos y recomienda tomar por lo menos dos muestras por día por establecimiento [39, 41]. Por tal razón, el periodo de muestreo en los establecimientos se coordinó con los inspectores del Departamento de Salud. Este periodo fue de tres meses (mayo - julio de 2005). El horario de recolección de los alimentos, fue entre las 11:00 a.m. y 1:30 p.m. por ser éste el de mayor afluencia de los consumidores. Para municipios turísticos como Lajas, se tomaron las muestras los fines de semana por ser éste su itinerario regular de trabajo. La cantidad de alimento recolectado fue de aproximadamente 100 g para el jamón y de 250 g para el pollo, Se utilizaron los métodos oficiales descritos en el Manual de análisis bacteriológico (BAM por sus siglas en inglés) [17].

Para evitar alguna transformación significativa de los parámetros de prueba que fueron objeto de la investigación, las muestras se colocaron por separado en bolsas plásticas

estériles selladas (Whirlpak®) debidamente identificadas y se transportaron al laboratorio de microbiología en neveras portátiles con “*cold packs*” para mantener la temperatura a 41°F o menos ($\leq 5^{\circ}\text{C}$).

3.3 Monitoreo de temperaturas

Se tomó la temperatura a los alimentos en el momento de la visita. El termómetro utilizado fue de tipo bimetalico. Para evitar contaminación cruzada durante la toma de la muestra y entre muestras, el termómetro se desinfectó con toallitas con alcohol. Los termómetros fueron calibrados dos veces por semana, según recomienda el Manual del curso “Inocuidad de Alimentos” [22]. La temperatura fue anotada en el cuestionario.

3.4 Preparación de las muestras

Las muestras fueron procesadas en un periodo menor de cuatro horas después de recolectadas. La muestra se homogenizó (según el capítulo 1 para la preparación de la muestra del BAM) [2, 17] en un procesador de alimentos. Para evitar la contaminación cruzada entre muestras y reducir el número de bacterias luego de la limpieza, se utilizó un método de saneamiento con una solución de cloro para el procesador, según recomienda el Código de Alimentos (4-703.11) [18].

3.5 Análisis bacteriológico

De las muestras homogenizadas se obtuvieron 25 g y se colocaron en bolsas “*stomacher*” a las que se les añadió 225 ml de buffer fosfatado para hacer la primera dilución (10^{-1}). Luego, se hicieron diluciones seriadas en botellas de dilución que contenían 90 ml del buffer. De la primera dilución se transfirieron 10 ml a una de las botellas para obtener una

dilución 10^{-2} y así sucesivamente la dilución anterior a otra botella de 90 ml de diluyente hasta llegar a la dilución 10^{-6} . La enumeración de las bacterias se llevó a cabo según el método utilizado por el BAM [17]. El aislamiento y la identificación de las bacterias se realizaron empleando métodos rápidos, aprobados por la AOAC como métodos alternos [45].

3.5.1 Determinación de coliformes totales y *Escherichia coli*:

El conteo de coliformes totales y *Escherichia coli* se realizó utilizando “*Petrifilm*” 3M los cuales contienen agar deshidratado de Bilis Rojo Violeta (VRB por sus siglas en inglés), un agente de gelificación soluble en agua fría, un indicador de glucuronidasa para identificar *E. coli*, y un indicador del tetrazolio para facilitar la visualización de otras bacterias coliformes gram negativas (*no E. coli*). De cada una de las diluciones seriadas ($10^1 - 10^{-6}$) se vertió 1 ml de muestra sobre las láminas por duplicado y se colocó en el centro de la lámina inferior. Se distribuyó la muestra uniformemente colocando el disco de dispersión (lado no plano) con una presión ligeramente hacia abajo desde el centro y se dejó hasta que el medio se solidificó (Apéndice 3). Estas láminas se incubaron a ± 35 °C (± 95 °F) por 24 ± 2 horas. Luego de este periodo de incubación utilizando un contador de colonias (“*Bantex Colony Counter*” 920A) se enumeró el crecimiento de bacterias. Sólo se reportaron las densidades de láminas que contenían entre 25 - 250 colonias. Aquellas colonias de color azul con presencia de gas se tomó como indicativo de presencia de *E. coli*. Otras colonias de coliformes de color rojo y con presencia de gas también se tuvieron en cuenta, por lo tanto, el conteo de coliformes totales consistió en la sumatoria de las colonias rojas y azules con

presencia de gas en ± 24 horas, según el método aprobado por la AOAC para el conteo de este medio (Figura 3.2).

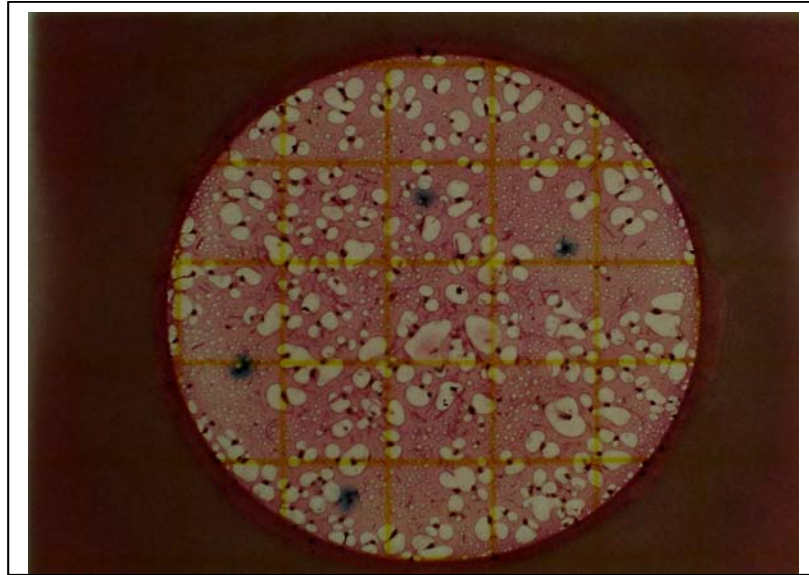


Figura 3-2 Muestra con coliformes totales y *E. coli* en petrifilms

3.5.2 Determinación de recuento total aeróbico:

Para el conteo total de microorganismos aeróbicos (APC por sus siglas en inglés) se utilizaron “*Petrifilm*” 3M los cuales contienen nutrientes útiles para el conteo en plato en los métodos criterios, un agente de gelificación soluble en agua fría y un indicador del tetrazolio que facilita la enumeración de colonias. Se utilizaron las diluciones seriadas preparadas en la enumeración de los coliformes totales y *Escherichia coli* para realizar el recuento total aeróbico. Se obtuvo 1 ml de muestra el cual fue vertido sobre las láminas. Se distribuyó la muestra uniformemente dentro de la lámina usando el disco de dispersión y se ejerció una presión ligeramente hacia abajo desde el centro del esparcidor plástico (Apéndice 4). Se

hizo un duplicado de cada una de las diluciones y las láminas una vez el gel se solidificó fueron incubadas por 48 ± 3 horas a una temperatura de ± 35 °C (95°F). Luego de incubadas las placas se enumeraron en un contador de colonias criterio (“*Bantex Colony Counter*” 920A) y se contaron todas las colonias rojas, independientes de su tamaño y forma en aquellas láminas que tuvieron de 25 - 250 colonias en su área circular, según el método de la AOAC aprobado para este medio (Figura 3.3).

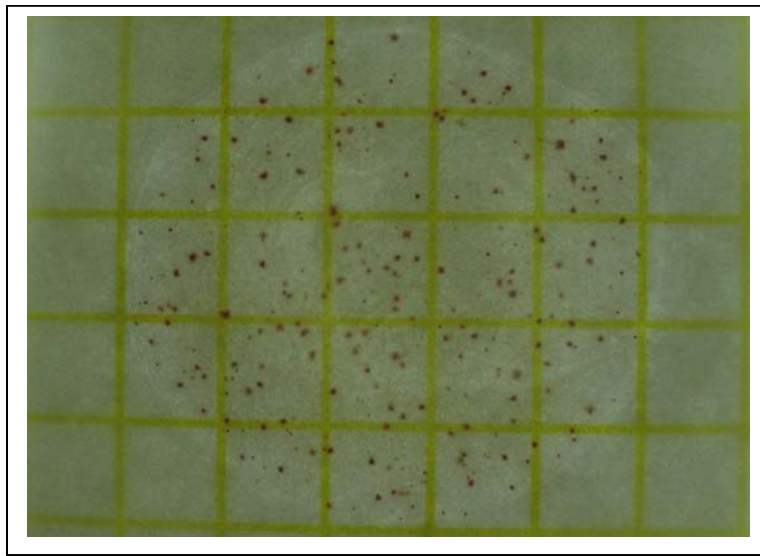


Figura 3-3 Muestra de recuento total aeróbico en petrifilms

3.5.3 Interpretación del análisis microbiológico

Las muestras fueron clasificadas como “Satisfactorio”, “Aceptable” y “No satisfactorio”, usando las guías para la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para el consumo (Tabla 3.1). La clasificación de la calidad microbiológica no son criterios obligatorios, solo se tomaron como una guía y su interpretación se describe en el Apéndice 5. En esta guía el criterio Enterobacteriaceae reemplazó el de coliformes totales que

tradicionalmente ha sido utilizado como indicador de higiene y contaminación después de preparado el alimento. El problema mayor encontrado en la utilización del término coliformes es la variabilidad en su definición. Algunos autores lo usan según el método de detección y que taxonómicamente no se encuentran definidos. Por tal razón, esta investigación utiliza el criterio de Enterobacteriaceae y su interpretación de grados de calidad microbiológica para coliformes totales, además que este grupo pertenece a la familia Enterobacteriaceae. El conteo microbiano se realizó según los diferentes tipos de alimentos listos para el consumo y se clasificó en cinco categorías, las cuales son utilizadas para el conteo de colonias aeróbicas, según el Apéndice 6.

Tabla 3-1 Guías de la calidad microbiológica de varios alimentos listos para el consumo

Categoría Alimento	Criterio	Calidad Microbiológica (CFU/g)		
		Satisfactorio	Aceptable	No satisfactorio
1	Recuento Total Aeróbico	$<10^3$	$10^3 - <10^4$	$\geq 10^4$
2		$<10^4$	$10^4 - <10^5$	$\geq 10^5$
3		$<10^5$	$10^5 - <10^6$	$\geq 10^6$
4		$<10^6$	$10^6 - <10^7$	$\geq 10^7$
5 [‡]		N/A	N/A	N/A
	Organismos Indicadores §			
1 a 5	Enterobacteriaceae	<100	$100 - <10^4$	$\geq 10^4$
1 a 5	<i>Escherichia coli</i>	<20	$20 - <100$	≥ 100

‡ La guía para el conteo de colonias aeróbicas no se puede aplicar para alimentos que se encuentran dentro de la categoría 5,

Productos fermentados, como por ejemplo: salami, quesos fermentados y yogurt no pasteurizado.

§ En ocasiones algunos de estos indicadores pueden ser patógenos.

El propósito de esta guía es ayudar a determinar la calidad bacteriológica de algunos alimentos listos para el consumo en el sitio de venta e indicar los niveles de contaminación y si éstos representan un riesgo potencial a la salud [19].

3.6 Análisis estadístico

Se realizó un análisis multivariado que evaluó la adopción de prácticas básicas recomendadas por el Código de Alimentos 2001 & Suplemento (2003) relacionadas con la Inocuidad de Alimentos en los EPSA cuyo personal a cargo aprobó el curso certificado. Adicionalmente se comparó estas prácticas para los diferentes municipios de la región de Mayagüez y se correlacionó con la calidad microbiológica de los alimentos servidos en los EPSA.

3.6.1 Método estadístico

Se realizaron diagramas donde se ubicaron las variables (o modalidades de las variables) de acuerdo a la asociación que hay entre ellas. Esta técnica estadística es usada cuando se desea visualizar la relaciones entre categoría de variables categóricas en conjuntos de datos, encuestas o entrevistas [21].

Se utilizó un Análisis de correspondencia múltiples (ACM) el cual es una extensión del análisis factorial de correspondencia (AFC) aplicada no a una tabla de contingencia, sino a una tabla disyuntiva completa, dado que las variables de interés fueron el contaje total aeróbico, coliformes totales, *Escherichia coli* y su relación con el monitoreo de temperatura. Se utilizaron siempre estas variables y se analizaron con otras secciones del formulario. Se utilizó un ACM para cada uno de las siguientes secciones: Información general, Preparación

académica/Trabajo, Prácticas de almacenamiento de alimentos, Prácticas de preparación de alimentos, Métodos para descongelar, Métodos para mantener los alimentos calientes, Prácticas de higiene personal y por último, Prácticas de limpieza y desinfección. De esta misma forma se observó como cambia la asociación en los diferentes municipios que formaron parte del estudio. Adicionalmente se examinaron las relaciones encontradas de manera detallada por medio de pruebas estadísticas de Chi cuadrado (X^2 test) para probar asociación entre las variables [21, 25].

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Características del estudio de los EPSA:

En los EPSA evaluados de la región de Mayagüez, se observó que éstos están dirigidos por hombres y mujeres entre las edades de 20 a 67 años. Se encontró que el 90.6% de los encuestados son puertorriqueños, el 93.8% completaron la escuela superior o más y el 68.7% habían trabajado por lo menos 5 años manipulando alimentos. En cuanto a las características del tipo de EPSA se observó que el 48.4% fueron restaurantes, el 21.9% cafeterías, el 12.5% establecimientos mixtos, el 10.9% centros de cuidado diario y el 6.3% otros. El 67.2% de los establecimientos estaban localizados en una zona urbana. En la Tabla 4.1 se observa en forma detallada las características del mismo.

Tabla 4-1 Características del estudio de los EPSA de la región de Mayagüez

Parámetro	Frecuencia (n = 64)*
Sexo	
Hombre	33 (51.6)
Mujer	31 (48.6)
Edad (años)	
20-<30	12 (18.8)
30-<40	23 (35.9)
40-<50	15 (23.4)
50 – 67	14 (21.9)
Lugar de Nacimiento	
Puerto Rico y EEUU.	58 (90.6)
Otro País	6 (9.4)
Grado de Escolaridad	
Elemental	1 (1.6)
Intermedia	3 (4.6)
Superior	30 (46.9)
Universitario	30 (46.9)

Tabla 4-1 Continuación

Parámetro	Frecuencia (n = 64)*
Tiempo trabajando como manipulador (años)	
< 5	20 (31.3)
5-< 15	26 (40.6)
≥ 15	18 (28.1)
Tipo de Establecimiento	
Restaurante	31 (48.4)
Cafetería	14 (21.9)
Establecimiento Mixto	8 (12.5)
Centro de Cuido Diario	7 (10.9)
Puesto Ambulante	3 (4.7)
Hospital	1 (1.6)
Lugar EPSA	
Zona Urbana	43 (67.2)
Zona Rural	21 (32.8)

* Número en paréntesis corresponde a porcentajes

4.2 Resultados del tipo de alimentos

Se analizaron 78 muestras de alimentos listos para el consumo. Los alimentos seleccionados fueron productos cárnicos, los dos principales fueron: pollo y jamón. Sin embargo, donde no se encontraban estos dos tipos de alimentos, se seleccionaron otros como carne de res y algunos productos en menor proporción como los embutidos, los cuales fueron clasificados dentro una sola categoría (Figura 4.1).

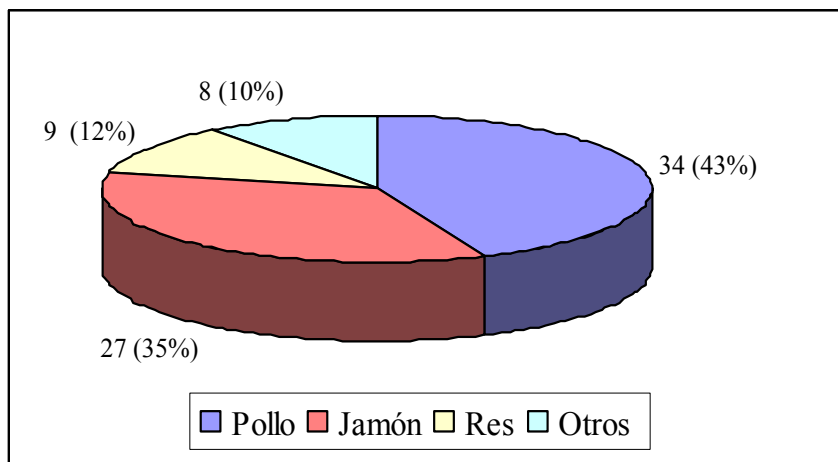


Figura 4-1 Tipos de alimentos analizados (n =78)

4.3 Distribución de las muestras analizadas por municipio

Las 78 muestras de alimentos fueron obtenidos de 64 EPSA distribuidos en los 10 municipios de la región de Mayagüez, según el plan de muestreo aleatorio estratificado. La distribución del número de muestras de alimentos listos para el consumo analizados por municipio se observa en la Tabla 4.2.

Tabla 4-2 Distribución de la muestra por municipio

Municipio	Frecuencia (n =78) *
Lajas	17 (21.8)
Mayagüez	17 (21.8)
San Germán	14 (17.9)
Cabo Rojo	9 (11.5)
Añasco	8 (10.3)
Las Marías	4 (5.1)
Rincón	4 (5.1)
Maricao	2 (2.6)
Sabana Grande	2 (2.6)
Hormigueros	1 (1.3)

*Número en paréntesis corresponde a porcentajes

4.4 Resultados del monitoreo de temperaturas

Se le tomó la temperatura a las 78 muestras de alimentos y se encontró que el 55.1% de los alimentos estaban expuestos a temperaturas dentro de la zona de peligro (42-134°F), mientras que el 44.9% se encontraban dentro de los rangos recomendados de temperatura (Apéndice 7). Estos rangos son: $\leq 41^{\circ}\text{F}$ ($\leq 5^{\circ}\text{C}$) para alimentos fríos y $\geq 135^{\circ}\text{F}$ ($\geq 57^{\circ}\text{C}$) para alimentos calientes. Los criterios de temperatura son establecidos por el Código de Alimentos 2001 & Suplemento (2003), de la “FDA” por sus siglas en inglés [18].

4.4.1 Análisis estadístico de riesgo de temperaturas peligrosas según resultados microbiológicos

Se realizó una prueba de Chi cuadrado para analizar los datos obtenidos de los alimentos expuestos a temperaturas dentro de la zona de peligro y su relación con los tres criterios microbiológicos. Se encontró relación significativa ($p < 0.05$) entre aquellos productos que se encontraban fuera de los rangos seguros de temperatura y la cantidad de bacterias aeróbicas presentes en el alimento. Es decir, aquellos alimentos que presentaban las cargas microbianas de contaje total aeróbico más alto, a su vez se encontraban a temperaturas en la zona de peligro. De un total de cuatro muestras encontradas dentro del rango de calidad no satisfactorio para contaje total aeróbico, tres estaban en riesgo de temperaturas peligrosas (Tabla 4.3).

De igual forma se realizó una prueba de Chi cuadrado para los dos criterios restantes (coliformes totales y *E. coli*) y no se encontró relación significativa con los alimentos que

estaban expuestos en la zona de peligro ($p > 0.05$). En la tabla 4.4 y 4.5 se muestra dicho análisis.

Por otra parte, en las tablas 4.3 a la 4.5 se observó que los tres criterios microbiológicos que formaron parte del estudio presentaron un número alto de muestras con riesgo de temperaturas peligrosas, pese a esto, la carga microbiana no siempre fue elevada. La discrepancia de estos datos pudo estar influenciada por otras variables no incluidas en este estudio como son: (1) el no conocer el tiempo de elaboración del alimento y luego el tiempo que lleva mantenido en la línea de servicio; y (2) la alta incidencia de otros microorganismos en los medios que rodean los productos cárnicos. Sin embargo, las pruebas para coliformes siguen siendo valiosas y tienen un valor acreditado como indicadores de inocuidad [26]. Por otra parte, el control (monitoreado) de las temperaturas en los alimentos potencialmente peligrosos, es una de las medidas de inocuidad más importantes en cada una de las etapas operacionales desde el recibo hasta que los alimentos sean consumidos o descartados.

Tabla 4-3 Frecuencias absolutas de riesgo de temperaturas peligrosas para contaje total aeróbico

Contaje Total Aeróbico	Riesgo de temperaturas peligrosas		
	SI	NO	Total
Satisfactorio	37	24	61
Aceptable	3	10	13
No Satisfactorio	3	1	4
Total	43	35	78

Estadístico	Valor	p-Value
Chi Cuadrado Pearson	6.79	0.0335
Chi Cuadrado MV-G2	6.99	0.0303

Tabla 4-4 Frecuencias absolutas de riesgo de temperaturas peligrosas para coliformes totales

Coliformes Totales	Riesgo de temperaturas peligrosas		
	SI	NO	Total
Satisfactorio	22	24	46
Aceptable	13	17	30
No Satisfactorio	0	2	2
Total	35	43	78

Estadístico	Valor	p-Value
Chi Cuadrado Pearson	1.82	0.4027
Chi Cuadrado MV-G2	2.57	0.2763

Tabla 4-5 Frecuencias absolutas de riesgo de temperaturas peligrosas para *E. coli*

<i>E. coli</i>	Riesgo de temperaturas peligrosas		
	SI	NO	Total
Satisfactorio	42	33	75
Aceptable	1	2	3
No Satisfactorio	0	0	0
Total	43	35	78

Estadístico	Valor	p-Value
Chi Cuadrado Pearson	0.6	0.4389
Chi Cuadrado MV-G2	0.9	0.3763

4.4.2 Análisis estadístico de riesgo de temperaturas peligrosas según tipo de establecimiento

Se realizó un análisis multivariado y una prueba de Chi cuadrado para observar la relación existente entre el tipo de establecimiento y las muestras de alimentos que se encontraron en riesgo de temperaturas peligrosas. La Figura 4.2 y la Tabla 4.6 demostraron la

no existencia de una relación significativa entre estos dos parámetros ($p > 0.05$). Sin embargo, cabe destacar que de un total de siete centros de cuidado diurno que formaron parte del estudio, seis no cumplían con los rangos recomendados de temperatura, lo cual puede ser un factor de riesgo de crecimiento bacteriano. Este tipo de establecimiento sirve a poblaciones susceptibles, infantes y niños menores de nueve años. Estudios como los realizados por la Universidad del Estado de Colorado, (EE.UU.) indican que las poblaciones susceptibles son las que presentan la mayor incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos [29].

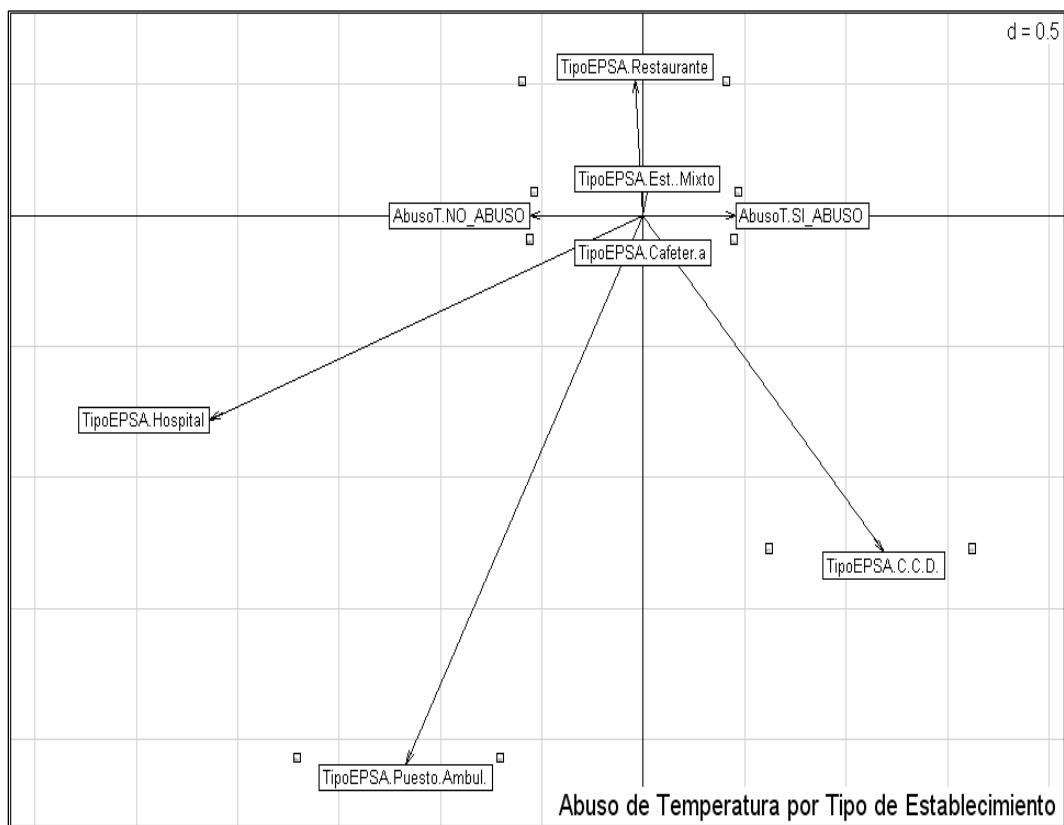


Figura 4-2 Análisis de correspondencia múltiple de riesgo de temperaturas peligrosas según el tipo de establecimiento

Tabla 4-6 Frecuencias absolutas de riesgo de temperaturas peligrosas según tipo de establecimiento

Tipo EPSA	Riesgo de temperaturas peligrosas		
	NO	SI	Total
Centro de Cuidado Diurno	1	6	7
Cafetería	9	11	20
Establecimiento Mixto	4	5	9
Hospital	1	0	1
Puesto Ambulante	3	1	4
Restaurante	17	20	37
Total	35	43	78

Estadístico	Valor	p-Value
Chi Cuadrado Pearson	5.36	0.3734

4.5 Resultados microbiológicos

En las muestras analizadas se utilizaron tres criterios microbiológicos, los cuales fueron: contaje total aeróbico para determinar la cantidad de bacterias aeróbicas presentes en el alimento, al igual que la enumeración de coliformes totales y el aislamiento de *E. coli*. Las muestras fueron procesadas a través de los métodos rápidos de petrifilms e interpretadas de acuerdo a las guías para la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para el consumo (Apéndice 7). El 97.4%, 78.9%, y el 58.9% de muestras analizadas fueron clasificadas como satisfactorio para *E. coli*, recuento total aeróbico y coliformes totales respectivamente. El 38.5%, 15.8% y el 2.6% fueron clasificadas dentro de los bordes límites de aceptabilidad para coliformes totales, recuento total aeróbico y *E. coli*, respectivamente. Solo el 5.3% y 2.6% de muestras se encontraron en el rango de no satisfactorio para

recuento total aeróbico y coliformes totales. *Escherichia coli* no reportó muestras para dicha clasificación, según la guía microbiológica de alimentos listos para el consumo. La Tabla 4.7 y Figura 4.3 muestran dichos resultados.

Tabla 4-7 Datos microbiológicos de las muestras analizadas de acuerdo a las guías para la calidad microbiológica de algunos alimentos listos para el consumo (Apéndice 5)

Parámetro Microbiológico	No. Totales Muestras	No. Muestras (%)		
		Satisfactorio	Aceptable	No satisfactorio
Recuento Total Aeróbico	76	60 (78.9)	12 (15.8)	4 (5.3)
Coliformes Totales	78	46 (58.9)	30 (38.5)	2 (2.6)
<i>Escherichia coli</i>	78	76 (97.4)	2 (2.6)	0

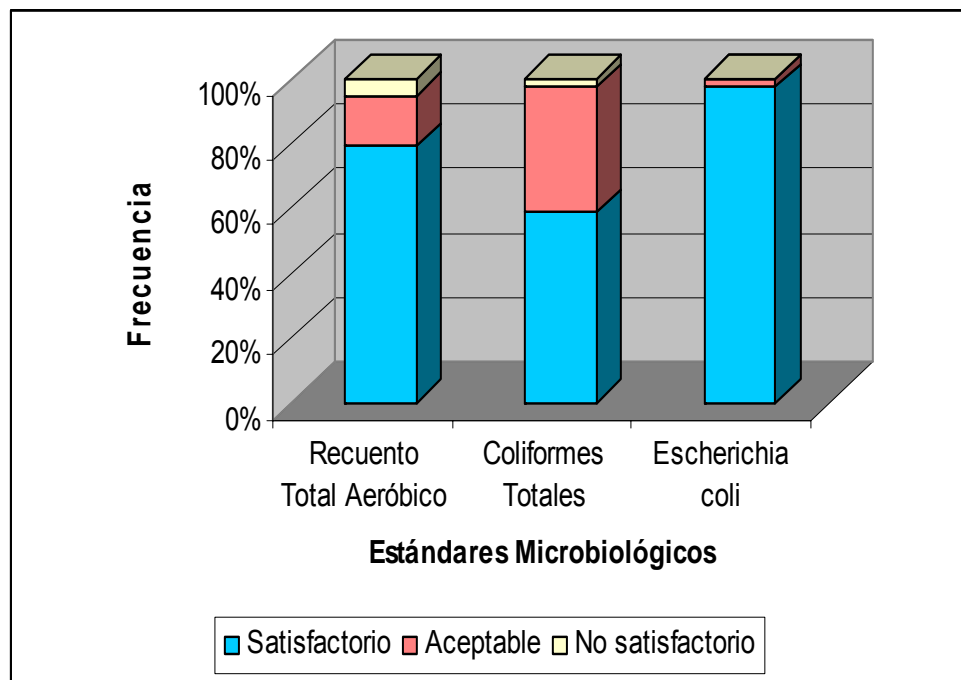


Figura 4-3 Comparación de los grados de calidad microbiológica en los tres criterios microbiológicos

4.5.1 Análisis estadístico según criterios microbiológicos:

Se realizó un análisis multivariado para comparar los resultados obtenidos en los criterios microbiológicos (Figura 4.4). Los resultados demostraron que existe una relación entre las muestras de alimento que fueron clasificadas como satisfactorias y aceptables en los criterios microbiológicos, lo cual significa que los establecimientos que presentaron cargas microbianas bajas o que se encontraron en el borde límite de aceptabilidad para coliformes totales tuvieron igual comportamiento de densidad para bacterias aeróbicas.

Asimismo, los alimentos que fueron clasificados como no satisfactorio para conteo total aeróbico y para coliformes totales, presentaron dicha relación, ya que los establecimientos que presentaron cargas microbianas altas para conteo total aeróbico a su vez, presentaron cargas microbianas altas para coliformes totales. En la figura 4.5 se observa cada análisis de los criterios mencionados por separado y con mayor claridad.

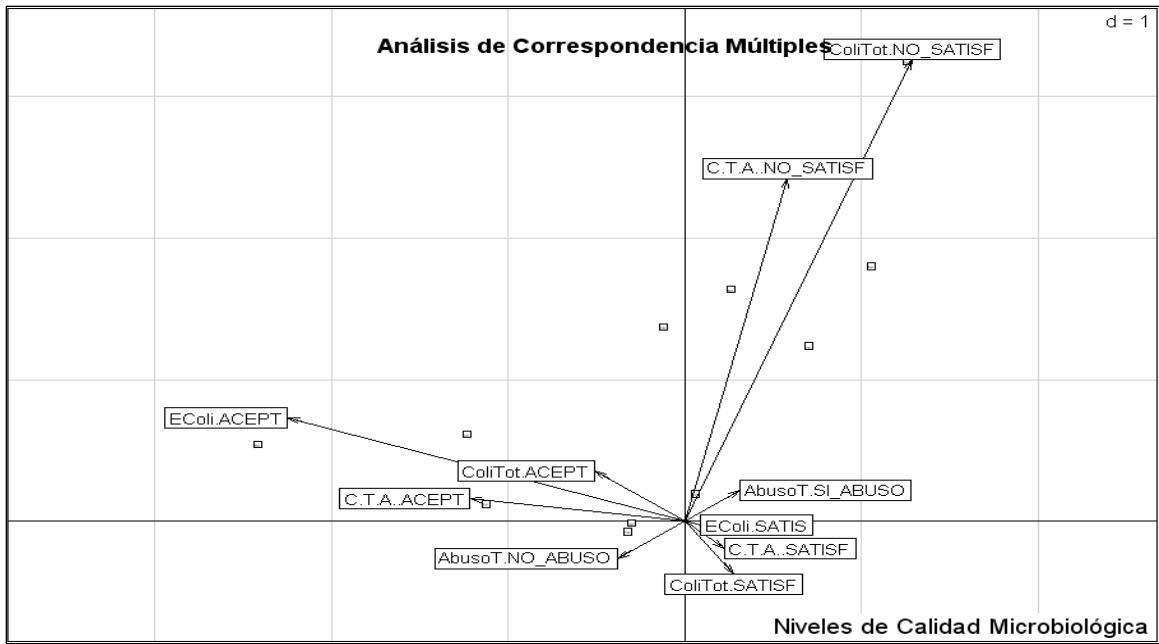


Figura 4-4 Análisis de correspondencia múltiple entre los grados de calidad microbiológica

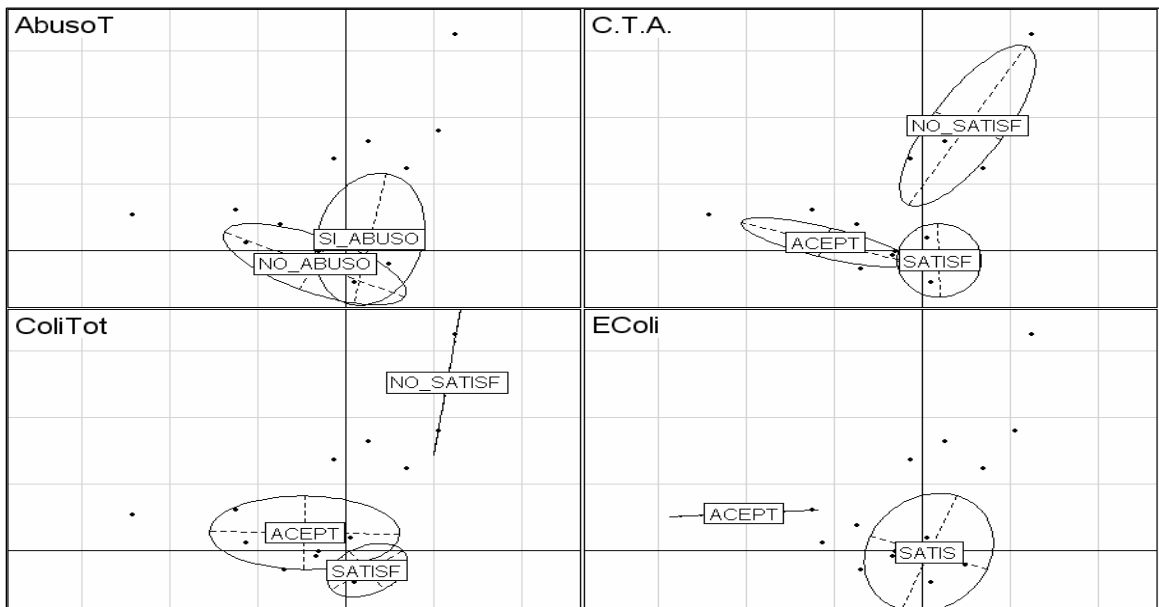


Figura 4-5 Análisis de correspondencia múltiple individuales para los grados de calidad microbiológica

La prueba de Chi cuadrado presentada en la Tabla 4.8 corrobora la relación existente entre contaje total aeróbico y coliformes totales ($p < 0.05$) según lo demuestra la figura 4.4.

Tabla 4-8 Frecuencias absolutas del contaje total aeróbico y su relación con coliformes totales

Coliformes Totales	Contaje Total Aeróbico			Total
	Satisfactorio	Aceptable	No Satisfactorio	
Satisfactorio	41	4	1	46
Aceptable	19	9	2	30
No Satisfactorio	1	0	1	2
Total	61	13	4	78

Estadístico	Valor	p-Value
Chi Cuadrado Pearson	15.81	0.0033
Chi Cuadrado MV-G2	11.08	0.0257

4.5.2 Análisis estadístico para contaje total aeróbico según municipio:

Se realizó un análisis multivariado entre los municipios donde fueron tomados el mayor número de muestras y la cantidad de bacterias aeróbicas presentes en el alimento. En la figura 4.6 se observa que Lajas comparado con los municipios de Mayagüez, Añasco y San Germán fue el que presentó las cargas microbianas más altas para dicho criterio. De un total de tres muestras de alimentos encontrados dentro del grado de calidad no satisfactorio en estos cuatro municipios, dos pertenecían a Lajas. Por otra parte, Mayagüez y Añasco fueron los que presentaron el mayor número de alimentos dentro del grado de calidad satisfactorio. San Germán presentó el mayor número de alimentos dentro del borde límite de

aceptabilidad, esto comparado con los otros tres municipios. Para comprobar la relación observada en el análisis multivariado se realizó la prueba estadística de Chi cuadrado para los cuatro municipios donde fueron tomados el mayor número de muestra y la presencia de bacterias aeróbicas en el alimento. Se encontró relación significativa con un $p < 0.05$, (Tabla 4.9).

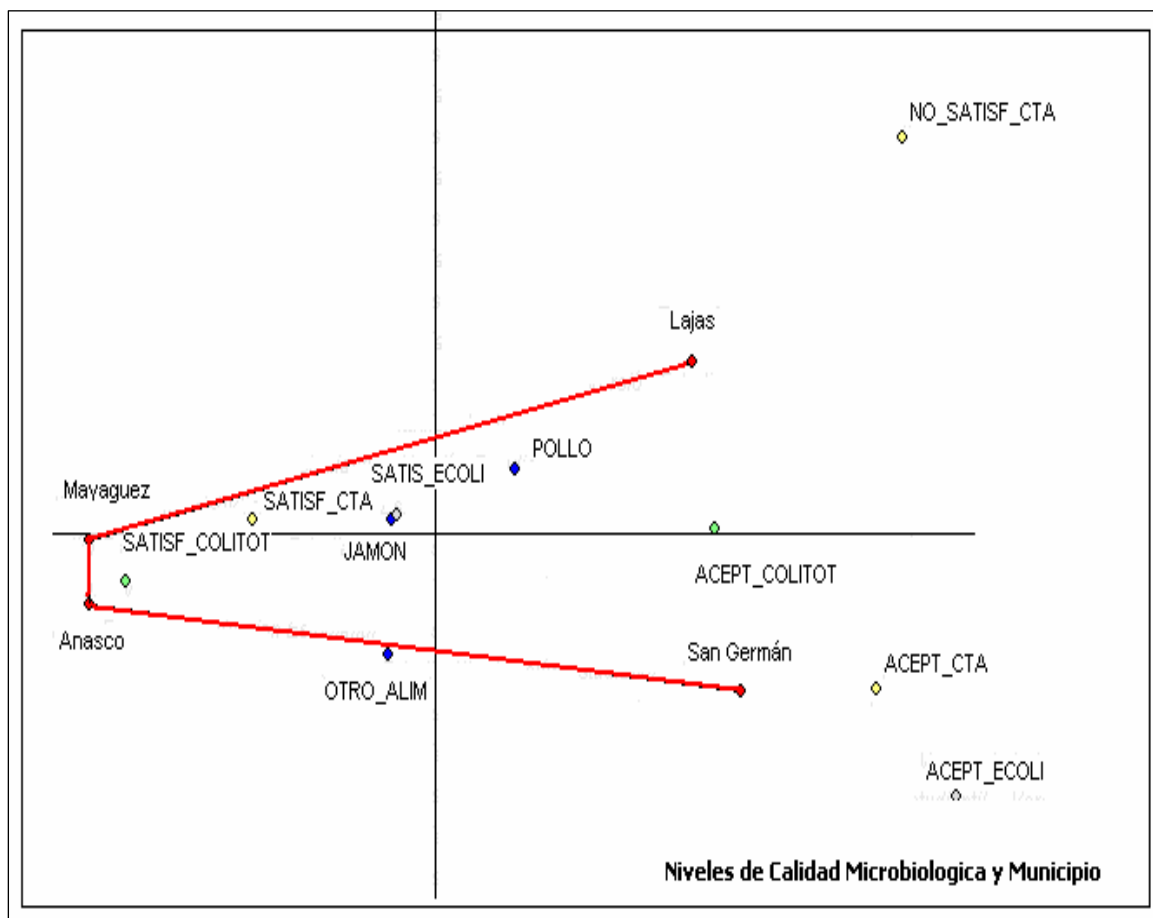


Figura 4-6 Análisis de correspondencias múltiples entre los grados de calidad microbiológica según municipio

Tabla 4-9 Frecuencias absolutas del contaje total aeróbico según municipio

<u>Contaje Total Aeróbico</u>	<u>Añasco</u>	<u>Lajas</u>	<u>Mayagüez</u>	<u>San Germán</u>	<u>Total</u>
Satisfactorio	7	11	17	7	42
Aceptable	1	4	0	6	11
No Satisfactorio	0	2	0	1	3
Total	8	17	17	14	56

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	13.23	0.0395

4.5.3 Análisis estadístico para coliformes totales según municipio:

Se analizó el criterio microbiológico de coliformes totales y su relación con los cuatro municipios con el mayor número de muestras analizadas (Figura 4.6). Se encontró en el municipio de Lajas un alimento con una menor calidad ya que su conteo es uno de los más altos para el grado del borde límite de aceptabilidad y no satisfactorio, esto comparado con los municipios de Mayagüez, Añasco y San Germán. De las 78 muestras de alimentos listos para el consumo analizados, dos fueron encontrados dentro del grado de calidad no satisfactorio, los cuales pertenecían a Lajas (Tabla 4.10).

San Germán presentó un número moderado de coliformes totales permitidos, ya que sus grados de calidad fueron encontrados dentro de los límites de aceptabilidad, después de Lajas. Los municipios de Mayagüez y Añasco fueron los que presentaron la menor presencia de estos microorganismos, puesto que sus grados de calidad fueron clasificados como satisfactorios. La prueba de Chi cuadrado presentada en la Tabla 4.10 comprobó dicha relación ($p < 0.05$).

Tabla 4-10 Frecuencias absolutas de coliformes totales según municipio

<u>Coliformes Totales</u>	<u>Añasco</u>	<u>Lajas</u>	<u>Mayagüez</u>	<u>San Germán</u>	<u>Total</u>
Satisfactorio	7	2	12	6	27
Aceptable	1	13	5	8	27
No Satisfactorio	0	2	0	0	2
Total	8	17	17	14	56

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	20.09	0.0027

4.5.4 Análisis estadístico para *Escherichia coli* según municipio:

El análisis multivariado realizado para el criterio microbiológico de *E. coli*, no mostró relación con los municipios analizados (Figura 4.6), lo cual es confirmado por la prueba estadística Chi cuadrado, que presenta un $p > 0.05$ (Tabla 4.11).

Tabla 4-11 Frecuencias absolutas de *Escherichia coli* según municipio

<u><i>Escherichia coli</i></u>	<u>Añasco</u>	<u>Lajas</u>	<u>Mayagüez</u>	<u>San Germán</u>	<u>Total</u>
Satisfactorio	8	17	17	12	54
Aceptable	0	0	0	2	2
No Satisfactorio	0	0	0	0	0
Total	8	17	17	14	56

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	6.22	0.1013

Las muestras analizadas estadísticamente para los tres criterios microbiológicos y su relación con los municipios que tenían el mayor número de muestras analizadas en el estudio, demostraron una relación significativa con el conteo total aeróbico y coliformes totales, pero no con *E. coli*, lo cual podría explicarse considerando el número de muestras observadas dentro del límite de aceptabilidad y el grado de calidad no satisfactorio fue mayor para estos dos primeros criterios, mientras que para *E. coli* de un total de 78 muestras analizadas, solo dos muestras fueron encontradas en el límite de aceptabilidad y ninguna muestra dentro del grado de calidad no satisfactorio. Por otra parte, es posible que al ser más amplio el número de organismos que pertenecen al grupo de las bacterias aeróbicas y al grupo indicador de coliformes totales se presente dicha asociación, siendo *E. coli* más selectivo.

4.6 Análisis estadístico para los tres criterios microbiológicos según el tipo de EPSA:

En el análisis Multivariado de la figura 4.7 no se observó una relación de la presencia de estos microorganismos con el tipo de establecimiento. Sin embargo al realizar la prueba de Chi cuadrado este mostró una relación significativa entre la presencia de coliformes totales y el tipo de establecimiento. La cafetería reportó las dos muestras clasificadas dentro del grado de calidad no satisfactorio (Tabla 4.12)

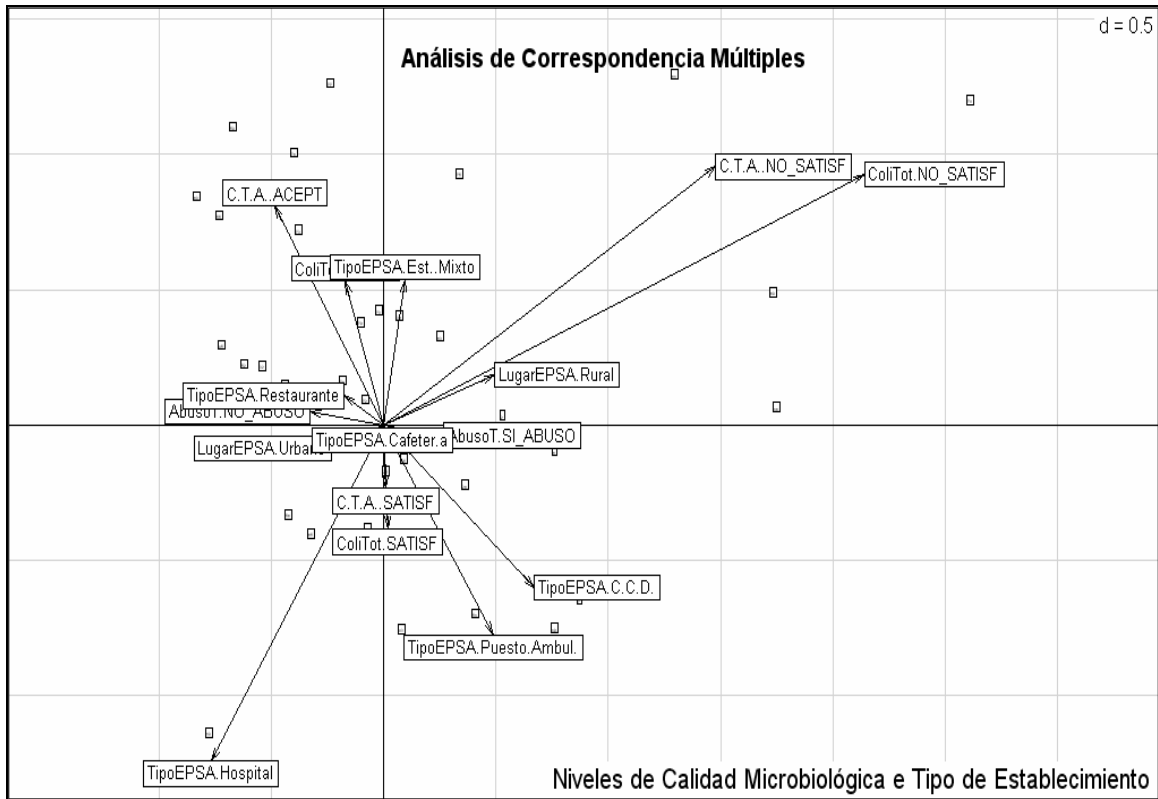


Figura 4-7 Análisis de correspondencias múltiples entre los grados de calidad microbiológica según el tipo de EPSA

Tabla 4-12 Frecuencias absolutas de coliformes totales según tipo de EPSA

<u>Tipo EPSA</u>	<u>Coliformes Totales</u>			<u>Total</u>
	<u>Satisfactorio</u>	<u>Aceptable</u>	<u>No Satisfactorio</u>	
Otros	11	1	0	12
Cafetería	16	11	2	29
Restaurante	19	18	0	37
Total	46	30	2	78

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	9.82	0.0435

También se analizó mediante la prueba de Chi cuadrado los otros dos criterios microbiológicos (contaje total aeróbico y *E. coli*) y no se encontró relación de la carga microbiana entre estos y el tipo de EPSA. Estos datos se muestran en la Tabla 4.13 y Tabla 4.14.

Tabla 4-13 Frecuencias absolutas del conteo total aeróbico según tipo de EPSA

<u>Tipo EPSA</u>	<u>Contaje Total Aeróbico</u>			<u>Total</u>
	<u>Satisfactorio</u>	<u>Aceptable</u>	<u>No Satisfactorio</u>	
Otros	11	0	1	12
Cafetería	21	6	2	29
Restaurante	29	7	1	37
<u>Total</u>	<u>61</u>	<u>13</u>	<u>4</u>	<u>78</u>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi cuadrado Pearson	3.64	0.4571

Tabla 4-14 Frecuencias absolutas de *E. coli* según tipo de EPSA

<u>Tipo EPSA</u>	<u><i>E. coli</i></u>			<u>Total</u>
	<u>Satisfactorio</u>	<u>Aceptable</u>	<u>No Satisfactorio</u>	
Otros	12	0	0	12
Cafetería	27	2	0	29
Restaurante	36	1	0	37
<u>Total</u>	<u>75</u>	<u>3</u>	<u>0</u>	<u>78</u>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	1.34	0.5116

4.7 Resultados de las principales prácticas de manejo de alimentos:

4.7.1 Relación de la carga microbiana con el manejo y control de temperaturas por escrito:

En cuanto a las preguntas relacionadas con las prácticas de manejo de riesgos de alimentos (Pregunta #1 y #2 del cuestionario), se observó que el 54.7% de los establecimientos no han elaborado por escrito un procedimiento de control de temperaturas en los alimentos potencialmente peligrosos y a su vez no están llevando a cabo el monitoreo de temperaturas en los mismos. Sin embargo, al analizar estadísticamente no se encontró relación significativa en cuanto a la frecuencia de realizar estas prácticas de manejo y la carga microbiana, ya que presentó un $p > 0.05$, (Tablas 4.15 a la 4.17). Estos resultados pudieron estar influenciados por otros factores como son la confiabilidad de los datos, esto por parte de la persona a cargo de responder el cuestionario e indicar la frecuencia con que realizaba dicha práctica.

Tabla 4-15 Frecuencias absolutas del contaje total aeróbico y su relación con el control por escrito de temperaturas en los alimentos preparados

<u>Pregunta #2</u>	<u>Contaje Total Aeróbico</u>			<u>Total</u>
	<u>Satisfactorio</u>	<u>Aceptable</u>	<u>No Satisfactorio</u>	
Siempre	23	4	1	28
Casi Siempre	9	1	1	11
A Veces	3	0	0	3
Nunca	22	7	2	31
Total	<u>61</u>	<u>13</u>	<u>4</u>	<u>73</u>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	2.77	0.8365

Tabla 4-16 Frecuencias absolutas de coliformes totales y su relación con el control por escrito de temperaturas en los alimentos preparados

<u>Pregunta 2</u>	<u>Coliformes Totales</u>			<u>Total</u>
	<u>Satisfactorio</u>	<u>Aceptable</u>	<u>No Satisfactorio</u>	
Siempre	14	13	1	28
Casi Siempre	7	4	0	11
A Veces	3	0	0	3
Nunca	20	10	1	31
Total	46	30	2	73

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	3.84	0.6979

Tabla 4-17 Frecuencias absolutas de *E. coli* y su relación con el control de temperaturas

<u>Pregunta 2</u>	<u><i>E. coli</i></u>			<u>Total</u>
	<u>Satisfactorio</u>	<u>Aceptable</u>	<u>No Satisfactorio</u>	
Siempre	28	0	0	28
Casi Siempre	11	0	0	11
A Veces	3	0	0	3
Nunca	28	3	0	31
Total	75	3	0	73

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	4.24	0.2368

4.7.2 Frecuencia del manejo de los alimentos fríos y/o calientes:

Con respecto a la frecuencia de como mantienen los alimentos fríos a temperaturas $\leq 41^{\circ}\text{F}$ y por separado (Pregunta #3 del cuestionario), es de “siempre” y “casi siempre”, con un 60.9% y 17.2% respectivamente, por otra parte, para mantener los alimentos calientes a temperaturas $\geq 135^{\circ}\text{F}$ una vez ha sido preparado (Pregunta #9 del cuestionario), casi la mitad de los establecimientos (42.2%) hacen uso siempre de una mesa de vapor “*steam table*” u otros que reportan que nunca apagan la estufa y sirven los alimentos desde la cocina (28.2%).

4.7.3 Relación de la carga microbiana con el uso del picador:

Otras de las prácticas evaluadas en cuanto al manejo de los alimentos listos para el consumo es el uso de un picador para carnes, otro para vegetales y frutas y otro para panes y éstos no se intercambian (Pregunta #5 del cuestionario) se observó que la mayoría de los establecimientos presentaron una frecuencia de práctica de “siempre” en un 62.5%.

Se realizó un análisis multivariado para observar la relación del uso del picador con los niveles de grados de calidad microbiológica, y se encontró que existe una relación significativa del uso inadecuado del picador con una mayor densidad de coliformes totales. De las 78 muestras de alimentos listos para el consumo analizados, dos muestras fueron encontradas dentro del grado de no satisfactorio y su asociación con las respuestas de frecuencia de práctica a esta pregunta fue de “a veces” y “nunca” lo cual, demuestra dicha asociación. En la Figura 4.8 se observa la relación significativa y la Figura 4.9 de manera más precisa e individual nos representa nuevamente esta asociación. También se corrobora

con la prueba de Chi cuadrado ($p < 0.05$) presentada en la Tabla 4.18. Por otra parte, en la tabla se observa que pese a que 8 muestras de alimentos en donde nunca se usó el picador adecuadamente, cinco muestras fueron encontradas dentro del grado de calidad satisfactorio y dos dentro del límite de aceptabilidad, estos datos pudieran explicarse considerando que aún utilizando el mismo picador entre los diferentes alimentos, éstos hayan sido higienizados y saneados efectivamente.

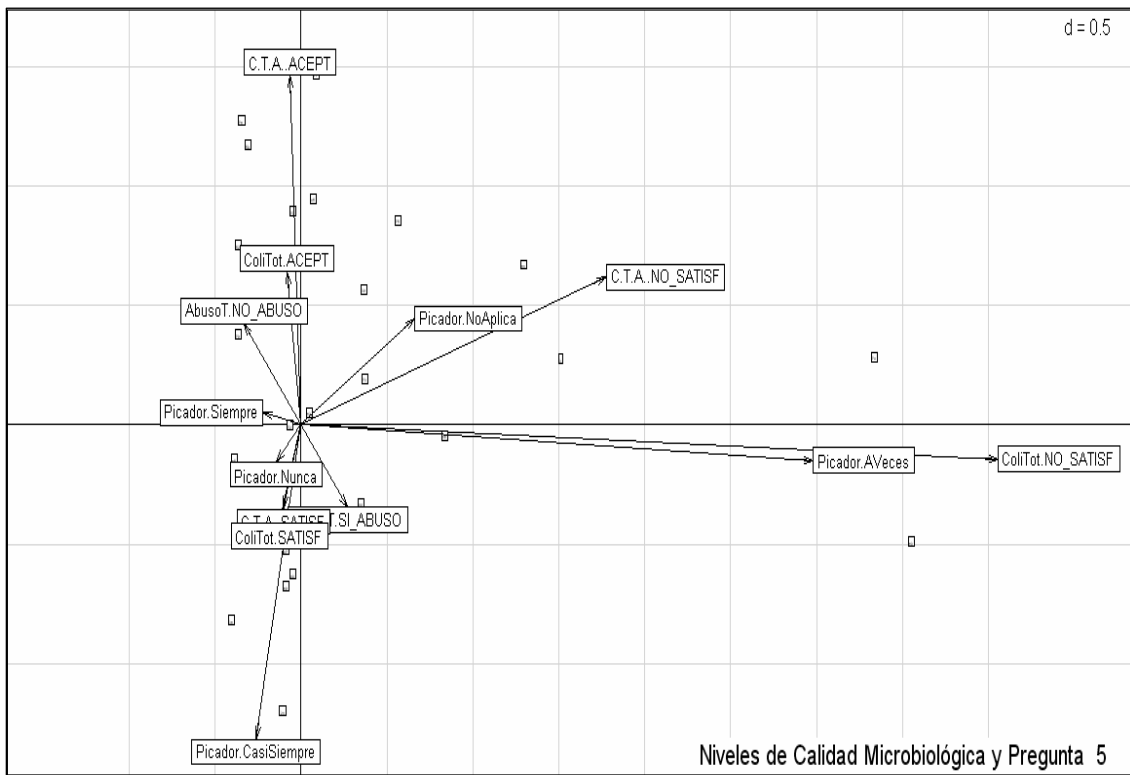


Figura 4-8 Análisis de correspondencias múltiples entre los grados de calidad microbiológica y el uso del picador

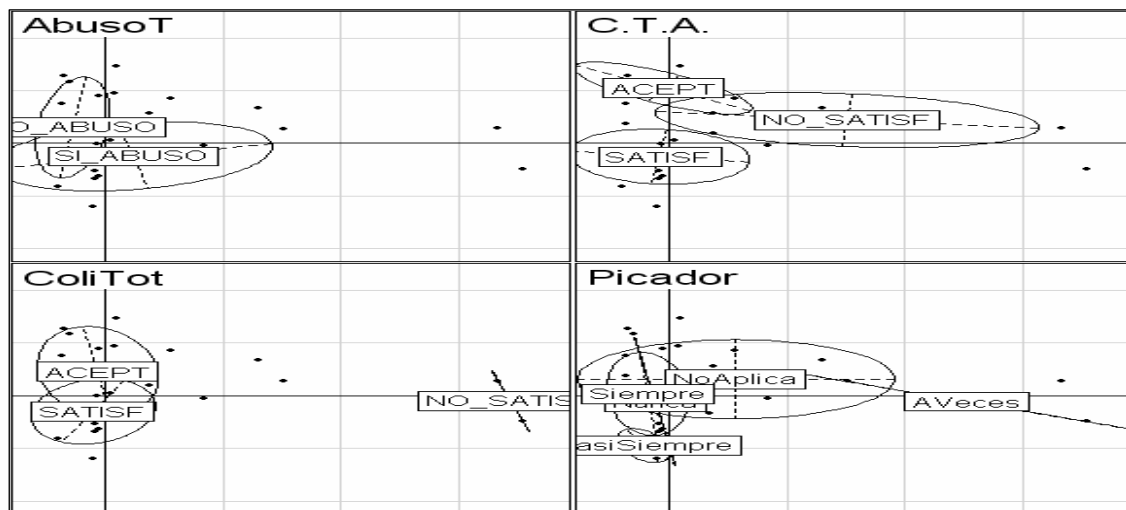


Figura 4-9 Análisis de correspondencias múltiples individuales entre los grados de calidad microbiológica y el uso del picador

Tabla 4-18 Frecuencias absolutas de coliformes totales y el uso del picador

<u>Picador</u>	<u>Coliformes Totales</u>			<u>Total</u>
	<u>Satisfactorio</u>	<u>Aceptable</u>	<u>No Satisfactorio</u>	
Siempre	29	23	0	52
Casi Siempre	4	1	0	5
A Veces	1	0	1	2
Nunca	5	2	1	8
Total	46	30	2	67

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	34.46	<0.001

Igualmente, se realizó la prueba de Chi cuadrado para observar la relación con los otros dos criterios (Contaje Total Aeróbico y *E. coli*) y no se encontró dicha relación, ya que presentaba un $p > 0.05$ (Tabla 4.19 y 4.20).

La asociación significativa que se encontró con la cantidad de coliformes totales también puede atribuirse porque éstos son indicadores de contaminación en el alimento, pero no como índice de contaminación fecal ya que no se encontró relación con *E. coli*. De igual manera no se encontró relación con la presencia de bacterias aeróbicas pues estos no son indicadores de inocuidad en los alimentos.

Tabla 4-19 Frecuencias absolutas de contaje total aeróbico y el uso del picador

<u>Picador</u>	<u>Contaje Total Aeróbico</u>			<u>Total</u>
	<u>Satisfactorio</u>	<u>Aceptable</u>	<u>No Satisfactorio</u>	
Siempre	43	7	2	52
Casi Siempre	5	0	0	5
Nunca	5	2	0	7
A Veces	1	1	0	2
Total	61	13	4	66

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	4.38	0.6260

Tabla 4-20 Frecuencias absolutas de *Escherichia coli* y el uso del picador

<u>Picador</u>	<u><i>E. coli</i></u>			<u>Total</u>
	<u>Satisfactorio</u>	<u>Aceptable</u>	<u>No Satisfactorio</u>	
Siempre	50	2	0	52
Casi Siempre	5	0	0	5
A Veces	2	0	0	2
Nunca	6	1	0	7
Total	75	3	0	66

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	1.92	0.5879

4.7.4 Análisis estadístico de las prácticas de limpieza del personal según el tipo de establecimiento

En cuanto a la higiene por parte del personal que trabaja directamente con los alimentos (Pregunta #10 del cuestionario), estos mostraron en su mayoría un buen comportamiento higiénico. El 76.6% de los empleados tenía la costumbre de lavarse las manos con agua y jabón cada vez que cambian de alimentos.

Se realizó una prueba de Chi cuadrado para observar alguna relación entre el uso frecuente de lavarse las manos por parte del personal con el tipo de EPSA al cual trabaja y no se encontró relación significativa ($p > 0.05$). En la Tabla 4.21 se presentan los datos.

Tabla 4-21 Frecuencias absolutas del lavado de manos y el tipo de EPSA

<u>Lavado Manos</u>	<u>Tipo de EPSA</u>			<u>Total</u>
	<u>Otros</u>	<u>Cafetería</u>	<u>Restaurante</u>	
Siempre	9	21	19	49
Casi Siempre	0	2	6	8
A Veces	2	1	3	6
Nunca	0	0	1	1
Total	<u>11</u>	<u>24</u>	<u>29</u>	<u>64</u>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	6.98	0.3225

4.7.5 Análisis estadístico de las prácticas de limpieza y desinfección según el tipo de establecimiento

Referente a las prácticas de limpieza y desinfección (Pregunta #12 y #13 del cuestionario), se observó que la mayoría de los establecimientos lavan los utensilios con agua tibia y jabón y en el tercer compartimiento del fregadero los sanean con una solución con cloro, yodo o cuaternario de amonio.

Se realizó la prueba de Chi cuadrado para observar si existía relación entre el tipo de establecimiento y el lavado de los utensilios con agua tibia y jabón y a su vez, con el uso de una solución para el saneamiento del mismo. Se encontró que entre estos parámetros existe una relación significativa (Tabla 4.22 y Tabla 4.23). Es decir, las buenas prácticas de manejo de limpieza y saneamiento estuvieron presentes en los tipos de EPSA estudiados, la mayoría tenían un fregadero de tres compartimientos, contaban con los materiales de limpieza y desinfección y tenían calentador de agua.

Tabla 4-22 Frecuencias absolutas del lavado de utensilios según el tipo de EPSA

<u>Lavado Utensilios</u>	<u>Tipo de EPSA</u>			<u>Total</u>
	<u>Otros</u>	<u>Cafetería</u>	<u>Restaurante</u>	
Siempre	8	21	28	57
Casi Siempre	0	0	0	0
A Veces	0	2	1	3
Nunca	3	1	0	4
Total	<u>11</u>	<u>24</u>	<u>29</u>	<u>64</u>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	10.7	0.0302

Tabla 4-23 Frecuencias absolutas del uso de una solución desinfectante en el tercer compartimiento del fregadero según el tipo de EPSA

<u>Saneamiento Utensilios</u>	<u>Otros</u>	<u>Tipo de EPSA</u>		<u>Total</u>
		<u>Cafetería</u>	<u>Restaurante</u>	
Siempre	7	20	25	52
Casi Siempre	0	2	1	3
A Veces	0	0	2	2
Nunca	1	2	1	4
Total	<u>11</u>	<u>24</u>	<u>29</u>	<u>64</u>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	14.29	0.0437

4.8 Resultados de las principales reglas de higiene personal

Se evaluaron 146 empleados en total, de los cuales 90 (61.6%) hacían uso del gorro; 73 (50.0%) hacían uso de un delantal limpio y 103 (70.5%) mantenían sus uñas cortas, limpias y sin esmalte. La figura 4.10 permite una mejor visualización de estos resultados.

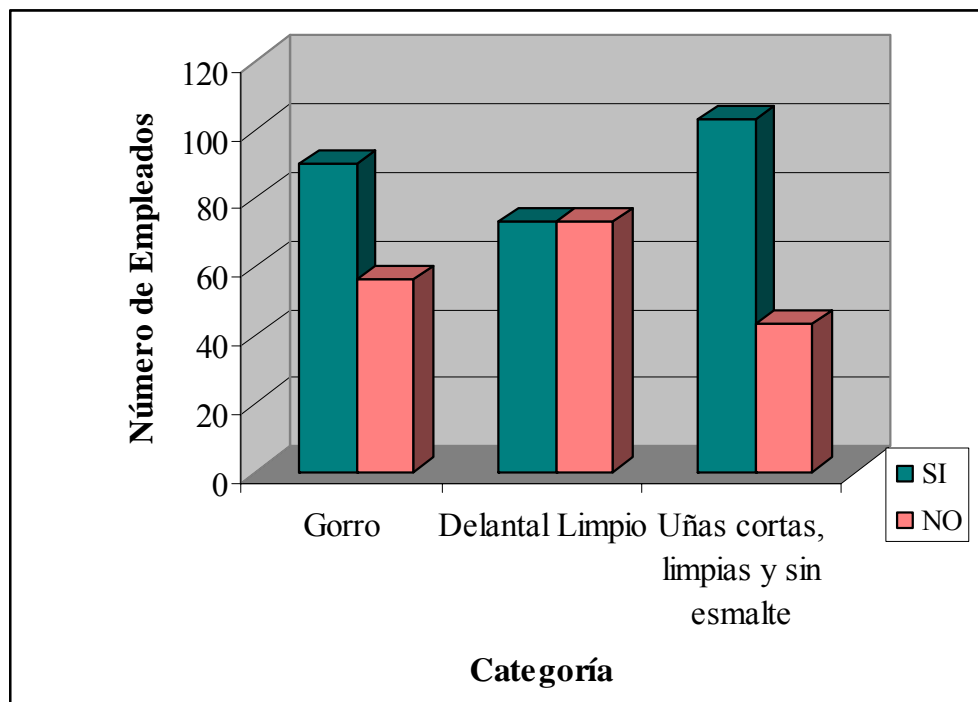


Figura 4-10 Comparación de las principales reglas de higiene personal

4.8.1 Análisis estadístico de las principales reglas de higiene personal según criterios microbiológicos:

Se realizó un análisis Multivariado para observar cada uno de los criterios microbiológicos y su relación con las reglas principales de aseo personal que deben cumplir todos los empleados que trabajan con alimentos (Preguntas #17, #18 y #19 del cuestionario) en cuanto al uso del gorro, uso de delantal limpio y si mantienen las uñas cortas, limpias y sin

ni esmalte. No se encontró relación entre estos factores. (Figura 4.11 y de manera individual se presenta en la Figura 4.12). Al realizar la prueba de Chi cuadrado tampoco se encontró relación significativa ($p>0.05$). Los que no cumplieron con estas prácticas fueron: el 38.4 % sin gorro, el 50% sin delantal limpio y el 29.5% sin mantener algún aspecto de uñas cortas, limpias y sin esmalte. El fallar en estas reglas de higiene personal no conllevó a una contaminación cruzada que produjera un resultado significativo entre los parámetros microbiológicos estudiados. Hay que también tomar en consideración que las prácticas que producen contacto directo con los alimentos tienen que ver principalmente con las manos y los utensilios. El 68.8% de los empleados tenía una frecuencia de siempre usar los guantes en el momento de cortar o preparar los alimentos que no se cocinan y el 76.6% de los empleados tenía la costumbre de lavarse las manos con agua y jabón cada vez que cambian de alimentos.

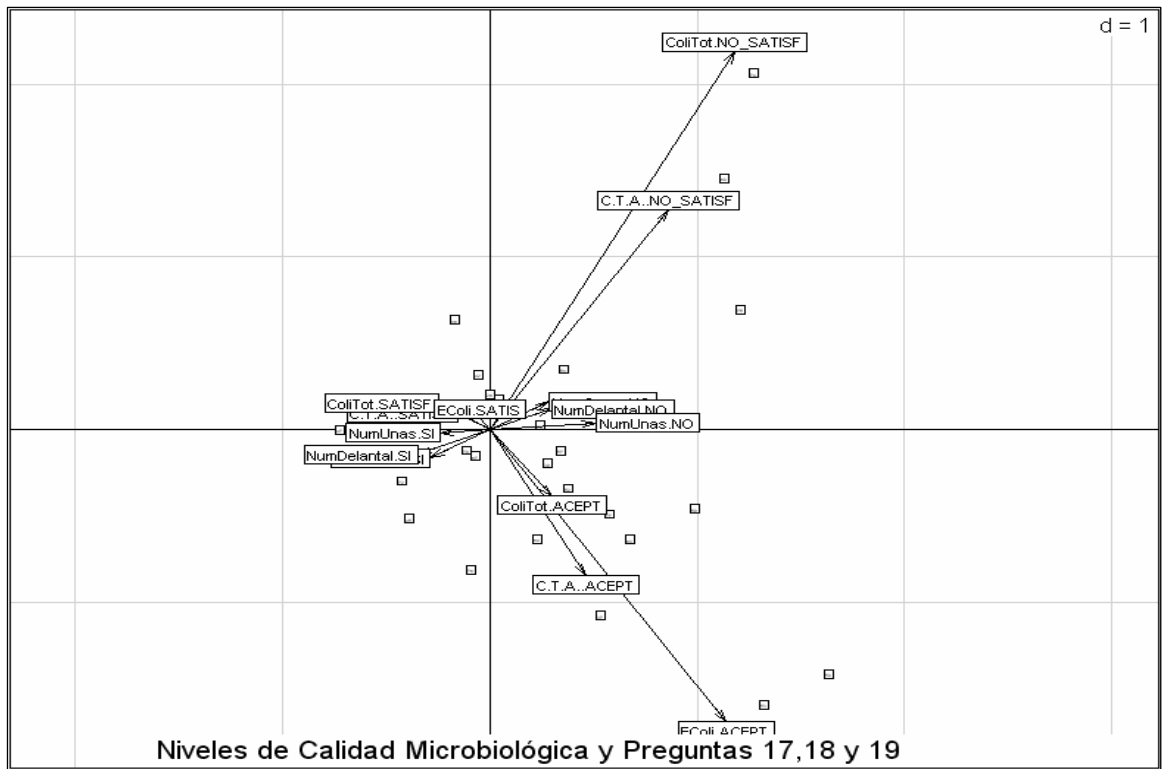


Figura 4-11 Análisis de correspondencias múltiples entre los grados de calidad microbiológica y el uso del gorro, delantal limpio, cortas y sin esmalte

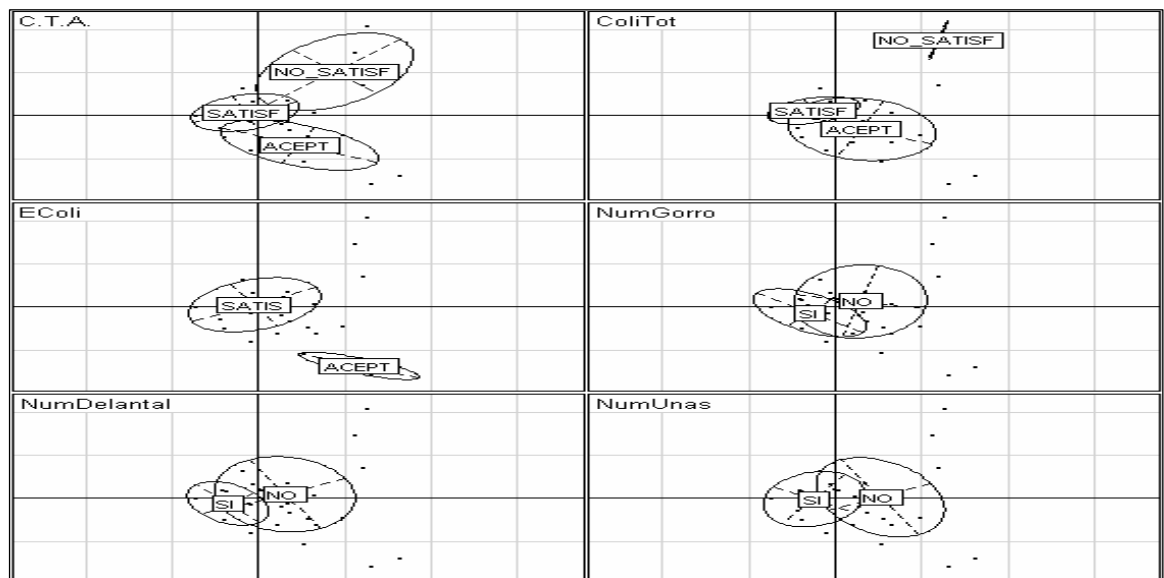


Figura 4-12 Análisis de correspondencias múltiples individuales entre los grados de calidad microbiológica y las principales reglas de higiene personal

4.9 Resultados del análisis estadístico de las prácticas de higiene, limpieza y saneamiento según nivel de escolaridad

Se realizó una prueba de Chi cuadrado para analizar la frecuencia con la que los empleados se lavan las manos con agua y jabón cada vez que cambian de alimento y su relación con la preparación académica. No se encontró relación significativa entre estas dos variables ($p > 0.05$), ya que la mayoría (76.6%) de los empleados tiene la costumbre de lavarse las manos con alta frecuencia independiente del nivel de escolaridad. En la Tabla 4.24 se muestran los datos.

Tabla 4-24 Frecuencias absolutas del lavado de manos y el nivel de escolaridad

<u>Lavado Manos</u>	<u>Elemental</u>	<u>Intermedia</u>	<u>Superior</u>	<u>Universitario</u>	<u>Total</u>
Siempre	1	2	23	23	49
Casi Siempre	0	0	3	5	8
A Veces	0	1	3	2	6
Nunca	0	0	0	1	1
Total	1	3	29	31	64

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	4.4	0.8830

En cuanto, a la frecuencia de limpieza de los utensilios con agua tibia y jabón y su relación con el grado de escolaridad, se encontró relación significativa ($p < 0.05$), ya que la frecuencia de realizar siempre una buena práctica de limpieza se vinculó con un mayor grado de preparación académica por parte de los empleados (Tabla 4.25).

Asimismo, aquellos que presentaron un nivel de escolaridad menor son los reportaron una frecuencia de nunca cuando se trata de esta práctica. De un total de 64 encargados del EPSA evaluados solo uno tenía un grado de escolaridad elemental y tres de intermedia, al observar su frecuencia con relación a las prácticas de limpieza de utensilios se observó que la frecuencia con la que realizan esta práctica no es alta, ya que reportaron frecuencias de “nunca” y “a veces” para el que tenía la escuela elemental e intermedia. En la Tabla 4.25 se observa esta relación significativa mediante la prueba de Chi cuadrado.

Tabla 4-25 Frecuencias absolutas del lavado de utensilios y el nivel de escolaridad

<u>Lavado Utensilios</u>	<u>Escolaridad</u>				<u>Total</u>
	<u>Elemental</u>	<u>Intermedia</u>	<u>Superior</u>	<u>Universitario</u>	
Siempre	0	0	26	30	57
Casi Siempre	0	0	0	0	0
A Veces	0	1	1	1	2
Nunca	1	2	2	0	5
Total	<u>1</u>	<u>3</u>	<u>29</u>	<u>31</u>	<u>64</u>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	20.9	0.0019

Igualmente, se realizó una prueba de Chi cuadrado para observar la relación existente entre la escolaridad y el uso frecuente de una solución de saneamiento en el tercer compartimiento y no se encontró relación entre estos dos parámetros ($p > 0.05$). Estos datos pueden estar influenciados ya que la frecuencia de sanear los utensilios por parte del

empleado es independiente del nivel de escolaridad (Tabla 4.26). Sin embargo, otras variables (que no formaron parte del estudio) como son las conductas socio-culturales del puertorriqueño pueden estar vinculadas con la adopción de las principales prácticas de limpieza y saneamiento de equipos y utensilios.

Tabla 4-26 Frecuencias absolutas del saneamiento de utensilios y el nivel de escolaridad

<u>Saneamiento</u> <u>Utensilios</u>	<u>Escolaridad</u>				<u>Total</u>
	<u>Elemental</u>	<u>Intermedia</u>	<u>Superior</u>	<u>Universitario</u>	
Siempre	1	2	21	28	52
Casi Siempre	0	0	2	1	3
A Veces	0	1	1	0	2
Nunca	0	0	2	2	4
<u>Total</u>	<u>1</u>	<u>3</u>	<u>29</u>	<u>31</u>	<u>64</u>

<u>Estadístico</u>	<u>Valor</u>	<u>p-Value</u>
Chi Cuadrado Pearson	15.33	0.0727

5 CONCLUSIONES

Los hallazgos encontrados en esta investigación en términos de la inocuidad microbiológica de los alimentos listos para el consumo, demuestran que el 97.4%, 78.9%, y el 58.9% de las muestras analizadas fueron clasificadas como satisfactorio para *E. coli*, recuento total aeróbico y coliformes totales respectivamente. El 38.5% de coliformes totales se encontraban dentro de los bordes límites de aceptabilidad, los otros dos criterios presentaron un menor porcentaje, 15.8% para conteo total aeróbico y 2.6% para *E. coli*. Solo el 5.3% y 2.6% de las muestras se encontraron en el grado de calidad no satisfactorio para recuento total aeróbico y coliformes totales. Ninguna de las muestras analizadas se encontraron dentro de esta clasificación para *E. coli* según la guía de referencia.

Los alimentos listos para el consumo clasificados según la guía para la calidad microbiológica presentan una relación significativa entre el conteo de conteo total aeróbico y la enumeración de coliformes totales encontrados en el alimento, es decir, aquellas muestras de alimentos que presentaban una carga alta de bacterias aeróbicas a su vez presentaban una alta densidad de coliformes totales.

Los resultados en los tres criterios microbiológicos según el tipo de EPSA y municipio, demuestra que la cafetería es el que presenta el mayor número de coliformes totales. Estos organismos indicadores presentes en las muestras analizadas fueron encontrados en el municipio de Lajas, igualmente se encontró el mayor número de bacterias aeróbicas, esto comparado con los otros municipios que formaron parte del estudio.

La calidad microbiológica de los alimentos listos para el consumo esta asociada con la densidad microbiana. El número de microorganismos presentes en las muestras de alimentos analizadas pudo estar influenciado por aquellos que se encontraban expuestos en la zona de peligro y por algunas prácticas no adecuadas durante el manejo y elaboración de los mismos.

Los datos sobre las temperaturas en los alimentos listos para el consumo en los EPSA demuestran que la mayoría no están manteniendo éstos dentro de los rangos recomendados y seguros para proteger la calidad e inocuidad del alimento y por ende, reducir el riesgo de contaminación bacteriana por el riesgo de estar en temperaturas peligrosas. Los alimentos expuestos en la zona de peligro demuestran una relación significativa con el número de bacterias aeróbicas presentes en el alimento.

Los resultados encontrados en cuanto a la higiene por parte del personal que trabaja directamente con los alimentos, demostraba que el 76.6% tuvieron un buen comportamiento higiénico. En relación a las principales prácticas del manejo de alimentos, se demuestra una asociación significativa entre el uso inadecuado del picador y una mayor densidad de coliformes totales, lo cual puede aumentar los riesgos de contaminación.

Referente a las prácticas de limpieza, y desinfección se observa que 89.1% de los establecimientos lavan los utensilios con agua tibia y jabón y el 81.3% sanean estos con una solución con cloro, yodo o cuaternario de amonio en el tercer compartimiento del fregadero. En cuanto a las principales reglas de higiene personal se observa que el 61.6% de los empleados cumplen con el uso adecuado de gorro, el 50.0% con el uso de un delantal limpio y el 70.5% mantienen las uñas limpias, cortas y sin esmalte.

Con relación a la frecuencia de limpieza de los utensilios con agua tibia y jabón y su relación con el grado de escolaridad, se demuestra que aquellos con un grado de escolaridad bajo no reportan una frecuencia alta al realizar dicha práctica. Sin embargo, el nivel de escolaridad no está relacionado con el uso frecuente de una solución para el saneamiento de los utensilios.

En los EPSA se observa la implementación de algunas normas incluidas en el código de alimentos, esto conforme a los esfuerzos hechos hasta hoy por agencias como Servicio de Extensión Agrícola, de mejorar las operaciones en el manejo de los alimentos en los EPSA para así disminuir los riesgos de contaminación de los productos listos para el consumo.

Sin embargo, los hallazgos encontrados en este estudio indican aún la necesidad del cumplimiento estricto del código de alimentos en lo referente a las normas que deben practicar los establecimientos de venta de alimentos al detal. Las autoridades de salud pública deben intensificar los esfuerzos para monitorear las condiciones de higiene y saneamiento en los EPSA. Esto, además, demuestra la necesidad de implementar mayor énfasis en el curso certificado de “Inocuidad de Alimentos” sobre el uso y manejo adecuado del termómetro, facilitar los formatos para llevar a cabo por escrito el control de temperatura y destacar la importancia de conceptos básicos como la prevención de contaminación cruzada.

6 RECOMENDACIONES

Referente a lo encontrado en el presente estudio, se realizan las siguientes recomendaciones para investigaciones futuras:

- Realizar el mismo estudio aunque más definido a un tipo de establecimiento en particular, con una mayor variedad de alimentos utilizando otros criterios microbiológicos.
- Utilizar los datos actuales para observar la relación que existe entre otras variables de interés que pudieron no tenerse en cuenta en el presente estudio, como por ejemplo, las prácticas de métodos de descongelación de los alimentos y/o métodos de conservación de los alimentos calientes y su relación con la densidad microbiana final.
- Se deben realizar más estudios sobre la calidad microbiológica de los alimentos listos para el consumo en Puerto Rico.
- Las autoridades encargadas de la salud pública en Puerto Rico y el Servicio de Extensión Agrícola (SEA) deben ofrecer más seguimiento al personal en los EPSA sobre la adopción de las prácticas incluidas en el curso de “Inocuidad de Alimentos” (recomendadas por el Código de Alimentos). Con el fin de mejorar sus intervenciones educativas, el SEA debe continuar recolectando datos que contribuyan a identificar y evaluar los riesgos de manejo de alimentos mas significativos en los EPSA.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alianza de HACCP de Pescados y Mariscos. 2000. Curso sobre: Procedimientos de Control Sanitario para el Procesamientos de Pescados y Mariscos. Primera edición, Cáp. 3:3-2.
2. American Public Health Association. 1984. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods, 2nd ed. APHA, Washington, DC.
3. Association of Official Analytical Chemists. 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. AOAC, Arlington, VA.
4. Bell, B.P., Goldoft, M., Griffim, P.M., Davis, M.A., Gordon, D.C., Tarr, P.I., et al. 1994. A multistate outbreak of *Echerichia coli* O157:H7 associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers. The Washington experience. JAMA. 272:1349-53.
5. Blacklow, N.R., Greenberg, H.B. 1991. Viral gastroenteritis. J Med. 4: 252-64.
6. Bresee, J.S., Widdowson, M-A., Monroe, S.S., Glass, R.I. 2002. Foodborne viral gastroenteritis: challenges and opportunities. Clin. Infect Dis. 35:748-53.
7. Buchanan, R.L. 1991. Microbiological criteria food cooked ready to eat shrimp and crabmeat. Food Technol. 4: 157-160.
8. Buttiaux, R. and Mossel D.A. 1961. The significance of various organisms of faecal origin in foods and drinking water. J. Appl. Bacteriol. 24:353-64.
9. Dalton C.B., Gregory J., Kirk M.D., Stafford RJ., Givney R., Kraa E., Gould D. 2004. Foodborne disease outbreaks in Australia, 1995 to 2000. Hunter Population Health, University of Newcastle, Wallsend, New South Wales. 28 (2):211-24.
10. De Caloni, I.B. and Fernández-Coll, F. 1983. Elaboration, sensory and microbiological evaluation of mofongo. J. Agri. Univ. P.R. 67(2):95-99.
11. Deneen, V.C., Hunt, J.M., Paule, C.R., James, O.I., Johnson, R.G., Raymond, M.J., et al. 2000. The impact of foodborne calicivirus disease: the Minnesota experience. J Infect Dis. 181(suppl2):S281-3.

12. Devore JL., 2000. Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencias, Quinta Edición, Thomson Learning. 928-9.
13. Escherich, T. 1885 Die Darmbakterien des Neugeborenen und Sauglings. Fortschr. Med. 3:515-522, 547-54.
14. FAO/WHO. 1993. The role safety in health and development. Report of the Joint Expert Committee on Food Safety, Geneva: World Health Organization.
15. Fang, T.J., Wei, Q., Liao, C., Hung, M., Wang, T. 2003. Microbiological quality of 18 °C ready-to-eat food products sold in Taiwan. J. Food Microb. 80: 241-250.
16. Fernández-Coll, F. 1985. Microbiological quality of some Puerto Rico fast food. I Processor level; frozen or fried. J. Agri. Univ. P.R. 69[1]: 81-89.
17. Food and Drug Administration. Bacteriological analytical manual online. College Park, Maryland: FDA; 2001. <http://vm.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-toc.html>.
18. Food Code 2001 & Supplement 2003. Food and Drug Administration (FDA).
19. Gilbert, R.J., de Louvois, J., Donovan, T., Little, C., Nye, K., Ribeiro, C.D., et al. 2000. Guidelines for the microbiological quality of some ready-to-eat foods sampled at the point of sale. Commun. Dis. Public Health. 3:163-7.
20. Greenberg, H.B., Valdesuso, J., Yolken, R.H., Gangarosa, E., Gary, W., Wyatt, R.G., et al. 1989. Role of Norwalk virus in outbreaks off nonbacterial gastroenteritis. J Infect Dis. 139:564-8.
21. Greenacre, M.J. and Balasius, J. (1994). Correspondence Analysis in the Social Sciences. London: Academic. Pres.
22. González, V. 2004. Manual Curso Certificado: Inocuidad de Alimentos, Segunda edición. Lección 2 y 3.
23. Hall, J.A., Goulding, J.S., Bean, N.H., Tauxe, R.V., Hedber, C.W. 2001. Epidemiologic profiling: evaluating foodborne outbreaks for which no pathogen was isolated by routine laboratory testing: United States, 1982-99. Epidemiol. Infect. 127:381-7.
24. Henderg, C.W. and Osterholm, M.T. 1993. Outbreaks of food-borne and water-borne viral gastroenteritis. Clin. Microbiol. Rev. 6:199-210.

25. Hoffman, D.L and Franke, G.R. (1986). Correspondence Analysis: Graphical Representation of Categorical Data in Marketing Research. *Journal of Marketing Research*, Vol. 23 :(3)213-27.
26. Jay, J.M. 1994. *Microbiología Moderna de los Alimentos*. 3^{ra} Edición. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España Cap. 17:487-97
27. Jones, T.F and Gerber, D.E. 2001. Perceived etiology of foodborne illness among public health personnel. *Emerg. Infect. Dis.* 7:904-5.
28. Kaplan, J.E., Feldman, R., Campbell, D.S., Lookabaugh, C., Gary, G.W., et al. 1982. The frequency of a Norwalk-like pattern of illness in outbreaks of acute gastroenteritis. *J Infect Dis.* 72:1329-32.
29. Kendall, P., Medeiros L., Hillers, V., Chen G., Dimascola, S. 2003. Behaviors of special importance for pregnant women, infants and young children, the elderly and immune-compromised people. Department of Food Science and Human Nutrition, Colorado State University. Fort Collins, CO 80:1523-71.
30. Lin, F.Y., Morris, J.G., Trump, D., Tilghman, D., Wood P.K. et al. 1998. Investigation of an outbreak of *Salmonella enteritidis* gastroenteritis associated with consumption of eggs in a restaurant chain in Maryland. *Am J Epidemiol.* 128:839-44.
31. McCabe-Sellers, B. and Beattie S. 2004. Emerging trends in foodborne illness surveillance and prevention. *J. Am Diet Assoc.* 104:1708-17.
32. Mead, PS., Slutsker L., Dietz V., McCagi L.F. 1999. Food-related illness and death in the United States *Emerg Infect Dis*, 5:607-25.
33. Medeiros, L., Kendall P., Hillers V., Chen G., Dimascola S., 2003. Identification and Classification of Consumer Food-Handling Behaviors for Food Safety Education. The Ohio State University, Columbus,USA, 19:556-72
34. Mensah, P., Yeboah-Manu, D., Owusu-Darko, K. and Ablordey, A. 2002. Street foods in Accra, Ghana: how safe are they? *Bulletin of the World Health Organization.* 80:546-54.
35. Michino, H., Araki, K., Minami, S., Takaya, S., Sakai, N., et al. 1999. Massive outbreak of *Echerichia coli* O157:H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. *Am J Epidemiol.* 150:787-96.

36. Odumen, J., Mitchell S., Alves, D., Lynch A., Yee, A., Wang, S., Yliadis, S., Febber, G. 1997. Assesment of the microbiological quality of ready-to-use-vegetables for health-care food service. *J. Food Protect.* 60[8]:954-60.
37. OH, D., Marshall, D.L., Moody, M.N., and Bankston, J.D. 1992. Comparison of forced-air cooling with static-air cooling on the microbiological quality of cooked blue crabs. *J. Food Prot.* 55: 104-7.
38. OPS/OMS. 2002. Material Copyright © PANALIMENTOS. inppaz@inppaz.ops-oms.org.
39. Ortega, L. 2002. Implementación de Buenas Prácticas de Fabricación en una línea de procesamiento de ensaladas crudas refrigeradas. Tesis de grado. Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela.
40. Raccach, M. and Henningsen, C. 1997. The effects of chloride salt on *Yersinia enterocolitica* in meat. *Food Microbiology* 14: 431-8.
41. Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología. 2003. Presencia de *Entamoeba Histolytica*, *Ascaris Lumbricoides* y Coliformes Totales en ensaladas para perros calientes, expendidas en el centro de la ciudad de Maracay, Mayo-Junio de 2002, *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* v.23 n.1 Caracas. ISSN 1315-2556.
42. Sagoo, SK., Little CL., Griffith CJ., Mitchell R.T. 2003. Study of cleaning standards and practices in food premises in the United Kingdom. Environmental Surveillance Unit, Health Protection Agency, Communicable Disease Surveillance Centre. *Commun. Dis. Public. Health.* 6[1]:3-4.
43. Schardinger, F. 1892. Über das Vorkommen Gährung erregender Spaltpilze im Trinkwasser und ihre Bedeutung für die hygienische Beurtheilung desselben. *Wien. Klin. Wachr.* 5:403-405, 421-23.
44. Smith, T. 1895. Notes on *Bacillus coli commune* and related forms, together with some suggestions concerning the bacteriological examination of drinking water. *Amer. J. Med. Sci.* 110:283-302.
45. Sneed, J., Strohbahn C., Gilmore S.A., Mendonca, A. 2004. Microbiological evaluation of foodservice contact surfaces in Iowa assisted-living facilities *Journal of the American Dietetic Association*, v. 104, n. 11: 1722-24.
46. USDA/FSIS. 1998. *Microbiology Laboratory Guidebook* 3rd edition. Chapter 1, 3.

47. Vollaard A.M., Ali S., Van Asten H.A., Ismid I.S., Widjaja S., Visser L.G., Surjadi Ch., Van Dissel JT. 2004. Risk factors for transmission of foodborne illness in restaurants and street vendors in Jakarta, Indonesia. Department of Infectious Diseases, Leiden University Medical Centre, Netherlands. *Epidemiol Infect.* 132 [5]:863-72.
48. Weitzman, I., Cook, O.D., and Massey, J. 2001. Investigation of foodborne illness outbreak. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food.* 4 ed. APHA Publ. Washington, D.C.:257-66
49. Widdwson, M., Sulka. A., Bulens, S., Beard, S. Cheves, S., Hammonds, R., Salehi, E., Swanson E., et al. 2005. Norovirus and Foodborne Disease, United States, 1991-2000. *Emerg Infect Dis.* 5:95-102.

APÉNDICES

Apéndice 1

Enfermedades Entéricas de Notificación Obligatoria Puerto Rico, 1999-2003

Phone. (787) 773-0600 ext.251
 Cel. (787) 485-2830
 Fax. (787) 773-0622
 E-mail: ygarcia@salud.gov.pr

Bo. Monacillos Calle Casia #2
 San Juan, P.R. 00921-3200



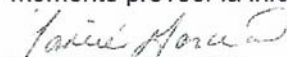
Enfermedades Entéricas de Notificación Obligatoria Puerto Rico, 1999-2003

Enfermedad	Número de casos				
	1999	2000	2001	2002	2003
Amebiasis	0	1	1	1	4
Campylobacteriosis	24	38	39	38	35
Cólera	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i> 0157:H7	9	7	2	1	3
Giardiasis	15	24	40	88	364
Hepatitis A	418	255	258	242	102
Listeriosis	0	0	0	2	0
Salmonelosis	715	742	972	660	798
Shigelosis	141	39	21	31	33
Yersiniosis	7	2	2	6	4

Fuente: Sistema de Vigilancia Enfermedades Transmisibles

Las enfermedades de notificación obligatoria tienen como base legal la Ley 81 del 14 de marzo de 1912, según enmendada. La lista de enfermedades notificables aparecen en la Orden Administrativa Núm. 177. Adjunto este documento.

Al momento la información solicitada de brotes por Intoxicación alimentaria la información está de forma manual y no computadorizada, lo que dificulta en este momento proveer la información.


 Yaniré García, MPH

Apéndice 2: Cuestionario

Encuesta: _____
Fecha/Hora: _____

**Universidad de Puerto Rico
Recinto Universitario de Mayagüez
Colegio de Ciencias Agrícolas
Servicio de Extensión Agrícola
Programa Ciencia y Tecnología de Alimentos**

Evaluación Microbiológica y de Temperatura en Alimentos de Establecimientos que Preparan y Sirven Alimentos (EPSA),
Región de Mayagüez

Instrucciones:

Este cuestionario es parte de las evaluaciones que realiza el Servicio de Extensión Agrícola a las personas a cargo de EPSA. El propósito es mejorar el Curso Certificado en Seguridad en Alimentos. La información será manejada completamente bajo los principios de confidencialidad. Agradecemos su sinceridad al contestar.

Marque con una (X) la alternativa que mejor corresponda a su contestación.

I. INFORMACIÓN GENERAL:

1. Sexo: Hombre _____ Mujer _____
2. Edad: _____ (años)
3. Lugar de Nacimiento: En este pueblo _____ En otro pueblo _____ Escriba el nombre _____
En otro país _____ Escriba el nombre _____
4. Lugar del EPSA: Zona Urbana _____ Zona Rural _____
5. Tipo de Establecimiento: Restaurante _____ Delicatessen _____ Cafetería _____ Freiduría _____
Puesto Ambulante _____ Hospital _____ CCD _____ Otro _____ (Indique: _____)

II. PREPARACIÓN ACADÉMICA/TRABAJO:

1. ¿Cuál es el grado escolar de mayor nivel que ha terminado? Elemental _____ Intermedia _____ Superior _____ Universitario o Inst. Tecnológico _____
Ninguno _____
2. ¿Cuántos años tiene de trabajar en establecimientos de alimentos? Menos de 2 años _____ 2-<5años _____ 5-<10años _____ 10-<15años _____ 15-<20años _____ 20 años y más _____

III. MANEJO DE RIESGOS EN LOS ALIMENTOS

Marque con una (X) la alternativa que mejor describa la frecuencia (SIEMPRE, CASI SIEMPRE, A VECES, NUNCA O NO APLICA) con que se realizan las prácticas en el establecimiento

PRÁCTICAS DE ALMACENAMIENTO DE ALIMENTOS	SIEMPRE	CASI SIEMPRE	A VECES	NUNCA	NO APLICA
1. El establecimiento donde trabaja, ¿Se ha preparado por escrito un procedimiento para el control de temperatura y tiempo en los alimentos potencialmente peligrosos?					
2. ¿Se está llevando a cabo el control de temperatura en los alimentos según preparado?					
3. ¿Se mantienen fríos a 41°F o menos y por separado los ingredientes de sándwiches, ensaladas y se mezclan fríos?					
4. Durante las horas de servicio de alimentos, ¿se utiliza un termómetro para verificar cada 2 horas su temperatura?					
PRÁCTICAS DE PREPARACIÓN DE ALIMENTOS					
5. ¿Se utiliza un picador para carnes, otro para vegetales y frutas y otro para panes y no se intercambian ?					
6. ¿Se utilizan guantes para cortar y preparar los alimentos que no se cocinarán (quesos, cortes fríos de carnes, frutas picadas, ensaladas, etc.)?					
7. ¿Cuándo los alimentos calientes no están a 135°F, se recalientan en la estufa u horno hasta que éstos alcancen 165°F o más?					
En las preguntas 8, 9 y 10, seleccione <i>todas</i> las alternativas que se realizan en el EPSA y puede añadir otra no incluida					
8. ¿Se utilizan algunos de los siguientes métodos en su establecimiento para descongelar carnes, aves y otros?					
a. fuera de la nevera tapado encima de una mesa					
b. en el fregadero sumergidas en agua					
c. en el fregadero sin agua					
d. en un fregadero exclusivo para alimentos bajo el chorro de agua fría y el proceso dura dos horas					
e. se pasa la carne del congelador a la nevera					
f. se cocinan congelados cuando son hamburguesas, pollo y carne picada para guisos					
g. en un microondas y se continua cocinando el alimento en un equipo de cocción convencional					
h. Otro: _____ (Indique: _____)					

Recuerde seleccionar todas las alternativas que se realizan en el EPSA y puede añadir otra no incluida en la lista

PRÁCTICAS DE PREPARACIÓN DE ALIMENTOS	SIEMPRE	CASI SIEMPRE	A VECES	NUNCA	NO APLICA
9. En su trabajo ¿cómo se mantienen calientes los alimentos cocidos durante todo el tiempo que dura el servicio?					
9.1 Se dejan tapados en la estufa o dentro del horno <u>apagado</u> y					
a. se pone el servicio en una mesa					
b. se sirven desde la cocina					
c. se recalientan a la hora de servir y se pone el servicio en una mesa					
9.2 Se dejan tapados en la estufa o dentro del horno <u>a fuego bajo</u> y:					
a. cuando están listos se pasan a una mesa de vapor (<i>steam table</i>)					
b. nunca se apaga, se sirven desde allí					
c. se apaga y se recalientan en o antes de dos horas de preparado, luego se descartan					
d. Otro: _____ (Indique: _____)					
PRÁCTICAS DE HIGIENE DEL PERSONAL					
10. ¿Los empleados se lavan las manos con agua y jabón cada vez que cambian de alimento?					
11. Cuando un empleado tiene diarrea, vómitos, catarro, infección de garganta y/o fiebre:					
a. Trabaja como de costumbre en la preparación de alimentos					
b. se queda descansando en su casa hasta que se mejore					
c. está presente, pero no trabaja con alimentos expuestos y utensilios limpios porque se sirve a niños, envejecientes y enfermos					
d. está presente pero no trabaja con alimentos expuestos y utensilios limpios porque se sirve al público en general					
e. se envía al médico y no se presenta al trabajo hasta que éste certifique que no padece de <i>Shigella</i> , <i>E. coli</i> , <i>Salmonella</i> , Virus de Hepatitis A y/o Rotavirus					
f. Otro: _____ (Indique: _____)					
PRÁCTICAS DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN					
12. ¿Se lavan los utensilios con agua tibia y jabón?					
13. ¿En el tercer compartimiento del fregadero se sanean los utensilios con una solución de agua con cloro, yodo o cuaternario ?					

¡Gracias por su colaboración!

Encuesta: _____

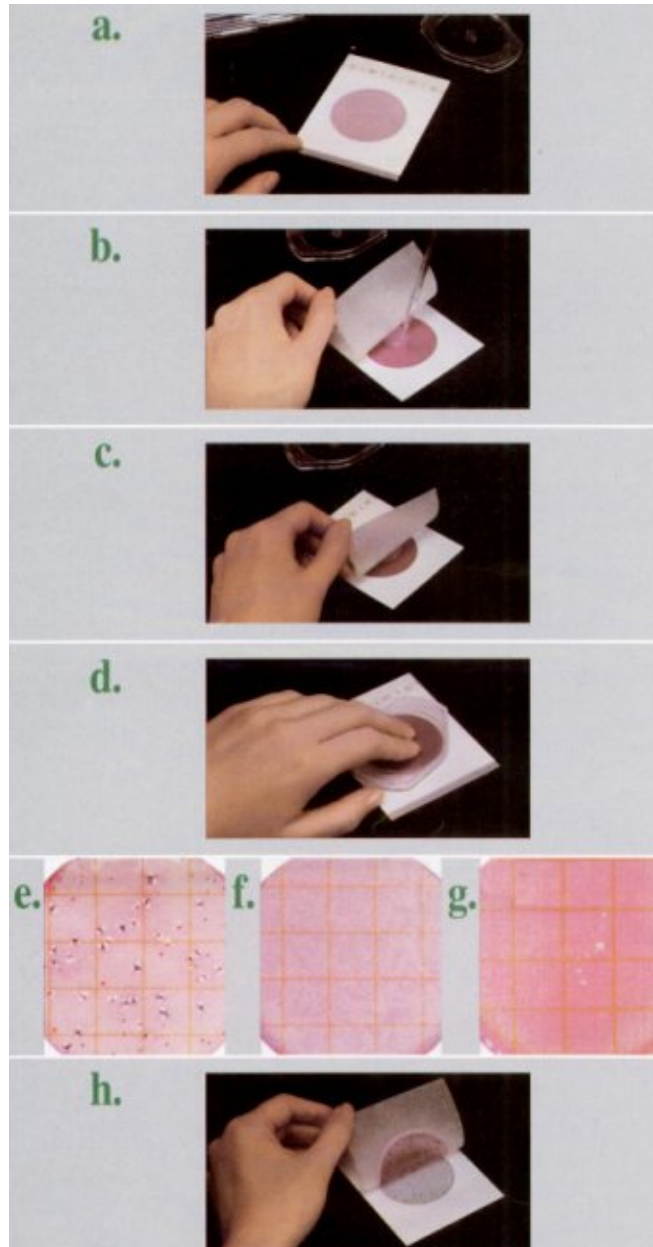
¡No conteste, este espacio es solo para uso del encuestador!

	SI	NO
14. ¿Tiene un fregadero de tres compartimientos?		
15. ¿Se contrata un exterminador con licencia para aplicar plaguicidas?		
16. Número de empleados evaluados =		
17. ¿Hacen uso del gorro?		
18. ¿Hacen uso de un delantal limpio diariamente?		
19. ¿Mantienen las uñas cortas, limpias y sin esmalte?		

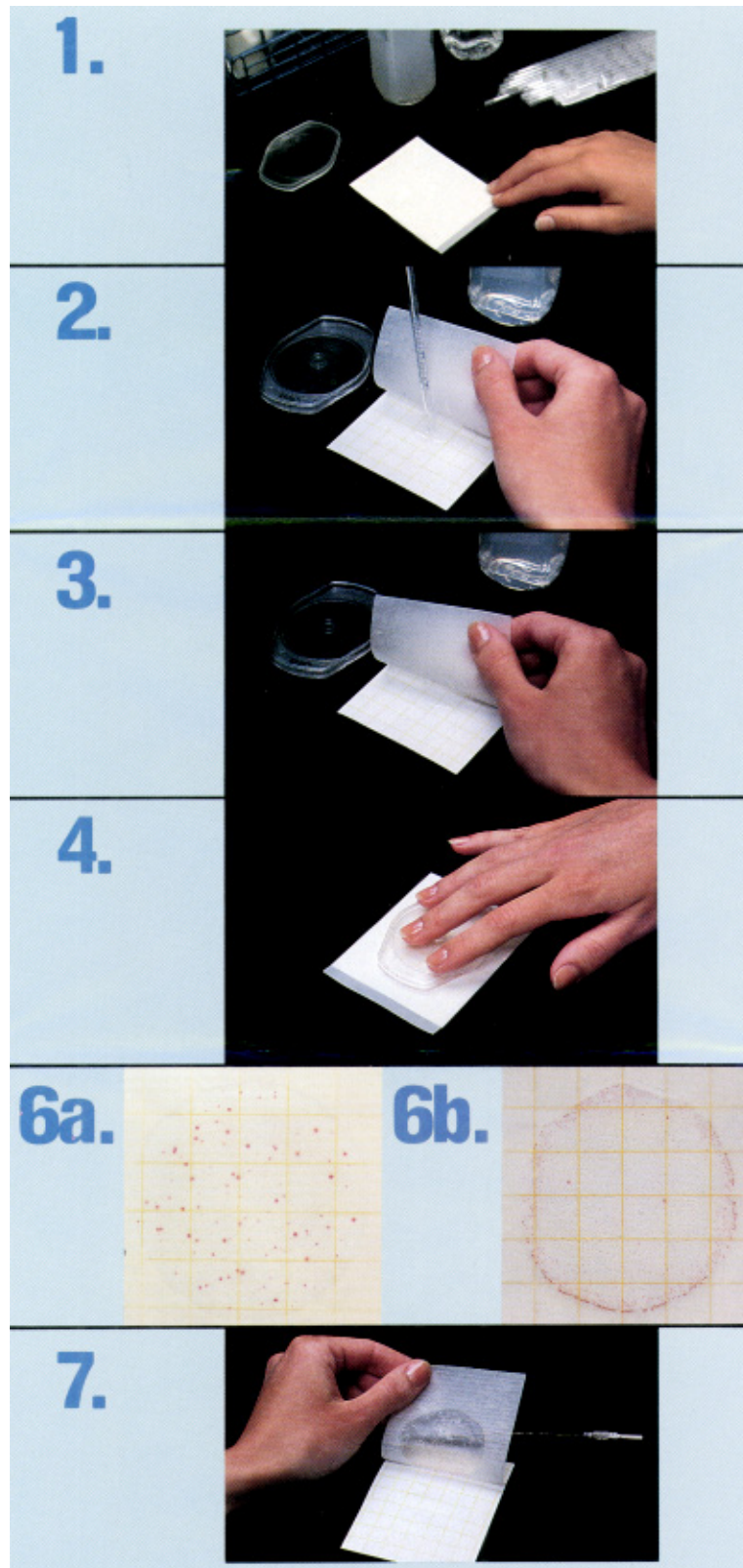
20. Temperatura Plato Frío ____°C ____°F

21. Temperatura Plato Caliente ____°C ____°F

Apéndice 3: Método petrifilms para la determinación de coliformes totales y *Escherichia coli*



Apéndice 4: Método petrifilms para la determinación de recuento total aeróbico



Apéndice 5: Guías para el análisis microbiológico de varios productos listos para el consumo

TABLE 1 Guidelines for the microbiological quality of various ready-to-eat foods

Food category (see table 2)	Criterion	Microbiological quality (CFU per gram unless stated)			
		Satisfactory	Acceptable	Unsatisfactory	Unacceptable/ potentially hazardous*
	Aerobic colony count[†] 30°C/48h				
1		<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	≥10 ⁴	N/A
2		<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	≥10 ⁵	N/A
3		<10 ⁵	10 ⁵ -<10 ⁶	≥10 ⁶	N/A
4		<10 ⁶	10 ⁶ -<10 ⁷	≥10 ⁷	N/A
5		N/A	N/A	N/A	N/A
	Indicator organisms[‡]				
1-5	Enterobacteriaceae [§]	<100	100-<10 ⁴	≥10 ⁴	N/A
1-5	<i>E. coli</i> (total)	<20	20-<100	≥100	N/A
1-5	<i>Listeria</i> spp (total)	<20	20-<100	≥100	N/A
	Pathogens				
1-5	<i>Salmonella</i> spp	not detected in 25g			detected in 25g
1-5	<i>Campylobacter</i> spp	not detected in 25g			detected in 25g
1-5	<i>E. coli</i> O157 & other VTEC	not detected in 25g			detected in 25g
1-5	<i>V. cholerae</i>	not detected in 25g			detected in 25g
1-5	<i>V. parahaemolyticus</i> [¶]	<20	20-<100	100-<10 ³	≥10 ³
1-5	<i>L. monocytogenes</i>	<20**	20-<100	N/A	≥100
1-5	<i>S. aureus</i>	<20	20-<100	100-<10 ⁴	≥10 ⁴
1-5	<i>C. perfringens</i>	<20	20-<100	100-<10 ⁴	≥10 ⁴
1-5	<i>B. cereus</i> and other pathogenic <i>Bacillus</i> spp [#]	<10 ³	10 ³ -<10 ⁴	10 ⁴ -<10 ⁵	≥10 ⁵

* Prosecution based solely on high colony counts and/or indicator organisms in the absence of other criteria of unacceptability is unlikely to be successful.

† Guidelines for aerobic colony counts may not apply to certain fermented foods – for example, salami, soft cheese, and unpasteurised yoghurt. These foods fall into category 5. Acceptability is based on appearance, smell, texture, and the levels or absence of indicator organisms or pathogens.

‡ On occasions some strains may be pathogenic.

§ Not applicable to fresh fruit, vegetables and salad vegetables.

¶ Relevant to seafood only.

If the *Bacillus* counts exceed 10⁴ CFU/g, the organism should be identified.

** Not detected in 25g for certain long shelf-life products under refrigeration

NA Not applicable

BOX 2 Grades of microbiological quality

The terms used to express the microbiological quality of the ready-to-eat foods are:

- Satisfactory – test results indicating good microbiological quality
- Acceptable – an index reflecting a borderline limit of microbiological quality
- Unsatisfactory – test results indicating that further sampling may be necessary and that environmental health officers may wish to undertake a further inspection of the premises concerned to determine whether hygiene practices for food production or handling are adequate or not.
- Unacceptable/potentially hazardous – test results indicating that urgent attention is needed to locate the source of the problem; a detailed risk assessment is recommended. Such results may also form a basis for prosecution by environmental health departments, especially if they occur in more than one sample. Food examiners will wish to draw on their own experience and expertise in determining the advice and comments they wish to give and they will be required to do this if invited to give an expert opinion during legal proceedings.

Apéndice 6: Categorías para el conteo de colonias de diferentes tipos de alimentos listos para el consumo

TABLE 2 Colony count categories for different types of ready-to-eat foods

Food group	Product	Category
Meat	beefburgers	1
	brawn	4
	faggots	2
	ham – raw (Parma/country style)	5
	kebabs	2
	meat meals (shepherds/cottage pie, casseroles)	2
	meat pies (steak and kidney, pasty)	1
	meat, sliced (cooked ham, tongue)	4
	meat, sliced (beef, haslet, pork, poultry)	3
	pork pies	1
	poultry (unsliced)	2
	salami and fermented meat products	5
	sausages (British)	2
	sausages (smoked)	5
	sausage roll	1
scotch egg	1	
tripe and other offal	4	
Seafood	crustaceans (crab, lobster, prawns)	3
	herring/roll mop and other raw pickled fish	1
	other fish (cooked)	3
	seafood meals	3
	molluscs and other shellfish (cooked)	4
	smoked fish	4
	taramasalata	4
Dessert	cakes, pastries, slices, and desserts - with dairy cream	3
	cakes, pastries, slices, and desserts - without dairy cream	2
	cheesecake	5
	mousse/dessert	1
	tarts, flans, and pies	2
	trifle	3
Savoury	bean curd	5
	bhaji (onion, spinach, vegetable)	1
	cheese-based bakery products	2
	fermented foods	5
	flan/quiche	2
	homous, tzatziki, and other dips	4
	mayonnaise/dressings	2
	pâté (meat, seafood, or vegetable)	3
	samosa	2
	satay	3
	spring rolls	3
Vegetable	coleslaw	3
	fruit and vegetables (dried)	3
	fruit and vegetables (fresh)	5
	prepared mixed salads and crudités	4
	rice	3
	vegetables and vegetable meals (cooked)	2
Dairy	cheese	5
	ice cream, milk shakes (non-dairy)	2
	ice lollies, slush, and sorbet	2
	yoghurt/frozen yoghurt (natural)	5
Ready-to-eat meals	pasta/pizza	2
	meals (other)	2
Sandwiches and filled rolls	with salad	5
	without salad	4
	with cheese	5

Apéndice 7: Monitoreo de temperaturas

No. Muestra	Tipo de Alimento	Temperatura (°F)	Tipo Plato
1	Salchicha	140	Caliente
2	Jamón	50	Frío
3	Pollo	110	Caliente
4	Pollo	156	Caliente
5	Jamón	48	Frío
6	Pollo	118	Caliente
7	Pollo	112	Caliente
8	Cerdo	132	Caliente
9	Jamón	42	Frío
10	Jamón	70	Frío
11	Pollo	106	Caliente
12	Pollo	130	Caliente
13A	Pollo	218	Caliente
13B	Jamón	46	Frío
14	Jamón	48	Frío
15	Pollo	138	Caliente
16A	Pollo	142	Caliente
16B	Jamón	56	Frío
17	Carne Res	180	Caliente
18	Jamón	52	Frío
19	Jamón	42	Frío
20	Carne Res	118	Caliente
21A	Pollo	190	Caliente
21B	Jamón	38	Frío
22A	Pollo	170	Caliente
22B	Jamón	42	Frío
23	Carne Res	130	Caliente
24	Pollo	180	Caliente
25	Jamón	48	Frío
26A	Jamón	60	Frío
26B	Bacon	110	Caliente
27	Jamón	38	Frío
28A	Jamón	42	Frío
28B	Pollo	120	Caliente
29A	Jamón	41	Frío
29B	Pollo	138	Caliente
30	Jamón	44	Frío
31	Cerdo	132	Caliente
32	Jamón	36	Frío

33	Carne Res	190	Caliente
34A	Jamón	70	Frío
34B	Pollo	138	Caliente
35	Salchicha	200	Caliente
36	Jamón	48	Frío
37	Carne Res	150	Caliente
38	Jamón	40	Frío
39	Jamón	58	Frío
40A	Salchicha	72	Frío
40B	Salami	98	Caliente
41	Jamón	38	Frío
42	Pollo	180	Caliente
43A	Pollo	210	Caliente
43B	Jamón	40	Frío
44A	Jamón	40	Frío
44B	Carne Res	155	Caliente
45	Carne Res	160	Caliente
46	Pollo	110	Caliente
47	Pollo	138	Caliente
48	Salami	40	Frío
49	Pollo	185	Caliente
50	Pollo	100	Caliente
51	Pollo	190	Caliente
52A	Jamón	60	Frío
52B	Pollo	150	Caliente
53	Jamón	40	Frío
54A	Pollo	125	Caliente
54B	Jamón	50	Frío
55	Jamón	50	Frío
56	Jamón	44	Frío
57	Jamón	60	Frío
58	Pollo	100	Caliente
59A	Pollo	110	Caliente
59B	Jamón	44	Frío
60	Pollo	120	Caliente
61	Carne Res	180	Caliente
62	Carne Res	140	Caliente
63	Jamón	40	Frío
64	Pollo	185	Caliente
Total muestras	78		